

THE HISTORY OF BIOCHEMISTRY

УДК 577.114+577.124+57.053

doi: <https://doi.org/10.15407/ubj92.01.136>

ВНЕСОК НОБЕЛІВСЬКИХ ЛАУРЕАТІВ В ДОСЛІДЖЕННЯ МЕТАБОЛІЗМУ ВУГЛЕВОДІВ І ЙОГО РЕГУЛЯЦІЮ. А. ГАРДЕН, Х. ЕЙЛЕР-ГЕЛЬПІН, К. Ф. КОРІ, Г. Т. КОРІ, Е. САЗЕРЛЕНД, Л. Ф. ЛЕЛУАР, Г. КРЕБС, Ф. ЛІПМАН, П. МІТЧЕЛЛ

Р. П. ВІНОГРАДОВА, В. М. ДАНИЛОВА, С. В. КОМІСАРЕНКО

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: valdan@biochem.kiev.ua

Отримано: 13 листопада 2019; Затверджено: 29 листопада 2019

Метаболізм вуглеводів – процес складний і багатоступеневий. До розшифрування цього процесу було залучено багато науковців – біохіміків, фізіологів, хіміків, але тільки деяких із них було удостоєно Нобелівської премії. Так, завдяки роботам А. Гардена і Г. Ейлер-Гельпіна із дріжджовими клітинами на початку ХХ ст. було встановлено, що перетворення вуглеводів (цукрів) в живих клітинах до кінцевих продуктів відбувається багатостадійно за участю ензимів і що для цього перетворення необхідна наявність залишку фосфорної кислоти. Ці дослідження стали початком вивчення хімічних реакцій, які лежать в основі життєдіяльності клітин, тобто реакцій проміжного метаболізму. Ганс Кребс в 1932 р. відкрив орнітиновий цикл – послідовність хімічних реакцій, завдяки яким в печінці тварин утворюється кінцевий продукт азотистого обміну – сечовина. Апогеєм його досліджень було встановлення циклу три- і дикарбонових кислот, який об'єднує окислення фактично всіх органічних речовин в живих організмах. Доповненням до робіт Г. Кребса були роботи Фріца Ліпмана, який в 1945 р. відкрив коензим А і встановив його роль в активації органічних сполук. Тоді і стало зрозумілим, як неактивна оцтова кислота та інші органічні кислоти активуються в живому організмі, щоб окислитись в циклі трикарбонових кислот. Величезну роботу зробили подружжя Герті і Карл Корі та Бернардо Усай, а також їхні учні та послідовники, зокрема Луїс Лелуар, для з'ясування механізму перетворення (синтезу і розщеплення) глікогену в печінці і м'язах. Вершиною в дослідженні цього напрямку в обміні вуглеводів було встановлення Ерлом Сазерлендом у 1958 р. регуляції активності ензимів, які беруть участь у перетворенні хімічних сполук (на прикладі фосфорилази), за участю ензиму аденілатциклази і с-АМР. Відкриття с-АМР виявило один із фундаментальних принципів практично всіх процесів життєдіяльності. І завершенням досліджень метаболізму вуглеводів стали неперевірені роботи Пітера Мітчелла, наукові інтереси якого були пов'язані з вивченням спрямованості біохімічних реакцій у просторі відносно певних внутрішньоклітинних орієнтирів і створенням хеміосмотичної теорії окислювального фосфорилування, яка є основою біоенергетики.

Ключові слова: метаболізм вуглеводів, дріжджові клітини, цикл Кребса, синтез і розщеплення глікогену, фосфорилаза, теорія окислювального фосфорилування.

Обмін речовин, або метаболізм, – це сукупність хімічних реакцій, що відбуваються в живому організмі. Метаболізм

вуглеводів в організмі людини і тварин полягає в утворенні універсальної енергетичної «валюти» – АТФ та створенні низькомолекулярних

сполук–попередників для біосинтезу біополімерів: *протеїнів, полісахаридів, ліпідів, нуклеїнових кислот*. Отже, метаболізм вуглеводів в організмі складається з *катаболічних процесів*, в яких розщеплюються молекули полі-, оліго- та моносахаридів із вивільненням і акумулюванням енергії, утворенням низькомолекулярних проміжних і кінцевих метаболітів, які залучаються як будівельні блоки в *анаболічні реакції* біосинтезу як власних макромолекул, так й інших біологічно активних сполук. Важливою характеристикою основних метаболічних шляхів та їхніх компонентів є те, що вони спільні для більшості живих організмів, і це свідчить про єдність походження живої природи. Проте певні особливості метаболізму властиві не тільки кожному виду, а й окремим особинам у межах виду.

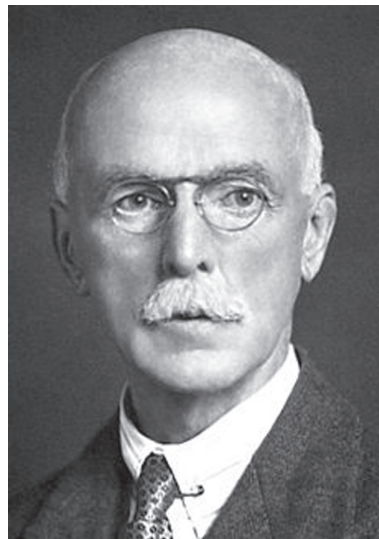
Метаболізм вуглеводів – процес складний і багатоступеневий. До розшифрування цього процесу було залучено багато науковців – біохіміків, фізіологів, хіміків, деяких з яких було удостоєно Нобелівської премії (О. Мейєргоф, О. Варбург, А. Сент-Дьорді) [1]. Проте детальний механізм анаеробного і аеробного перетворення вуглеводів і, особливо, механізм регуляції цих перетворень ще довго залишався невідомим.

У цій статті ми спробуємо з'ясувати внесок нобелівських лауреатів у розшифрування *тонких механізмів перетворення (метаболізму) вуглеводів*, які дали можливість створити сучасне уявлення про ці процеси в живих клітинах.

Одним із перших, хто отримав Нобелівську премію з хімії за дослідження обміну вуглеводів в бактеріях і дріжджах, був англійський хімік **Артур Гарден**. Премією його було відзначено у 1929 р. разом з німецько-шведським біохіміком Хансом фон Ейлер-Гельпіном «за дослідження ферментації цукру та ферментів (ензимів) бродіння» (англ. – «*for their investigations on the fermentation of sugar and fermentative enzymes*»).

Артур Гарден

Артур Гарден (англ. *Arthur Harden*) народився 12 жовтня 1865 року в Манчестері і був єдиним сином із дев'яти дітей в родині бізнесмена Альберта Тайеса і Ельзи (Макалістер) Гарденів. Його батьки були набожними сектантами, які виховували дітей в релігійній пуританській атмосфері, де не святкували навіть Різдво. Але все ж Артур закінчив початкову школу, потім – коледж і в 1881 р. вступив до Оуенс-коледжу при



Артур Гарден (1865–1940)

Манчестерському університеті. У 1885 р. він склав іспити на відмінно і отримав ступінь бакалавра з хімії.

У наступному році Артур отримав персональну стипендію, яку використав для навчання в Німеччині в *Отто Фішера* в *Ерлангенському університеті* (1887–1888 рр.). Там він досліджував властивості хімічних сполук – *нітрозонафтиламінів*. За цю роботу йому було присуджено докторський ступінь. Від 1888 р. до 1897 р. А. Гарден був лектором з хімії Манчестерського університету, після чого його запросили до *Дженнеровського* (пізніше *Лістеровського*) *інституту профілактичної медицини* в Лондоні. Спочатку він викладав хімію і мікробіологію, а потім зацікавився історією природознавства. Але через декілька років А. Гарден зрозумів, що його найбільше цікавить дослідницька діяльність, і він заглибився у вивчення *ферментації цукрів*, в процесі якої така макроенергетична сполука, як цукор без наявності кисню розщеплюється або до *спирту* і CO_2 , або до *органічних кислот*.

А. Гарден зацікавився *ферментацією цукрів у бактерій* і, починаючи з 1899 р., опублікував кілька робіт за цією тематикою. Ферментація відбувається також за участю дріжджів і одноклітинних грибів. А. Гарден був знайомий з роботами Едуарда Бухнера, який в 1897 р. довів, що сік із дріжджів спричинює таке саме бродіння цукру, як і самі клітини, про що йшлося в нашій статті раніше [1]. Крім того, Е. Бухнер продемонстрував, що один із компонентів екс-

тракту є ензимом і назвав його *зимазою*. Ензим є продуктом життєдіяльності клітин і функціонує як каталізатор, прискорюючи специфічні хімічні реакції в клітині.

Деякі вчені вважали, що бродіння відбувається за дії загадкової «життєвої сили» на живу клітину, але А. Гарден в 1904 р. остаточно довів, що *ферментація – це сукупність хімічних процесів*. Для підтвердження цього він одержав *препарат зимази*, профільтрував його під високим тиском крізь *пористий фарфор*, що був просочений желатиною, і виявив, що *ензим зимаза* складається з двох компонентів, один з яких проходить через фільтр, а інший – ні. Крім того, А. Гарден з'ясував, що бродіння припиняється тоді, коли видаляється один із компонентів дріжджового екстракту. Це було першим доказом наявності в клітинах двокомпонентних ензимів і необхідності присутності в деяких із них *коензимів*. За одним компонентом А. Гарден залишив назву «зимаза», а другий компонент назвав «*козимаза*». У подальшому він виявив, що *зимаза є протеїном*, а *козимаза – непротеїновою речовиною*. Це було його першим відкриттям.

У 1905 р. А. Гарден зробив своє друге відкриття – *процес ферментації для нормального перебігу потребує наявності фосфорної сполуки, яка складається з одного атому фосфору і чотирьох атомів кисню*. Спочатку він помітив, що швидкість розщеплення молекули цукру до двоокису вуглецю і спирту через певний час зменшується, але коли він додавав у розчин *фосфат*, активність ферментації стрімко зростала. А. Гарден дійшов висновку, що молекули фосфату зв'язуються з молекулами цукру, утворюючи *гексозодифосфат* (зимодифосфат) і, тим самим, створюють умови для ензимного індукування бродіння. Більш того, він виявив, що фосфат в процесі ферментації відокремлюється від продуктів реакції внаслідок складного ланцюга перетворень і залишається вільним. Ці дані дозволили йому *вперше запропонувати балансове рівняння спиртового бродіння*.

Дослідження А. Гардена про роль фосфату в процесі бродіння – це величезний внесок у його розуміння, яке пізніше назвали «*проміжним метаболізмом*», тобто в дослідження сполук, які утворюються в процесі проміжних хімічних реакцій в живому організмі. Роботи А. Гардена з ферментації цукрів (вуглеводів) стали моделлю для наступних експериментаторів, які працювали з рослинними і м'язовими тканинами.

Наслідком визнання важливості і значущості цих робіт стало те, що в 1906 р. А. Гардена запросили керувати *біохімічним факультетом Лістеровського інституту*. Через 5 років він став *почесним професором Лондонського університету* і одночасно *директором Лістеровського інституту*.

За виключенням періоду 1914–1918 рр., коли він займався військовими дослідженнями з хімії водорозчинних вітамінів, А. Гарден весь свій науковий час віддавав дослідженню процесів ферментації. Так, в 1914 р. він виявив ще один фосфорний ефір – *гексозомонофосфат*, він також вивчав дію ензимів *карбоксилази, каталази, пероксидази*.

Ще однією великою заслугою А. Гардена є те, що разом з М. В. Бейлісом у 1913 р. вони заснували біохімічний журнал – «*Biochemical Journal*», який став одним із провідних наукових видань, і з яким він співробітничав 26 років.

У 1929 р. А. Гардену разом з *Хансом фон Ейлер-Гельпіном* було вручено Нобелівську премію з хімії «*за дослідження ферментації цукру та ферментів (ензимів) бродіння*». У своєму привітанні під час презентації член Шведської королівської академії наук Х. Г. Седербаум (С. G. Söderbaum) зазначив, що нобеліанти розширили і уточнили результати робіт Е. Бухнера. «*Зацікавленість спеціалістів до вивчення механізмів складних реакцій ферментації цукрів, узагальнив Х. Г. Седербаум, дозволив зробити важливі висновки про основні шляхи метаболізму вуглеводів рослин і тварин*».

У наступному році після вручення Нобелівської премії А. Гарден залишив посаду директора Лістеровського інституту і наступні 10 років повністю присвятив науковій діяльності.

Пішов з життя А. Гарден 17 червня 1940 р. внаслідок прогресуючого протягом декількох років нервового розладу. Людиною він був скритною, із стриманим почуттям гумору, але прекрасним експериментатором. Як вважав Ф. Г. Гопкінс, «*для А. Гардена як експериментатора була властива точність в спостереженнях, виразність думки, здатність неупереджено аналізувати результати експериментів і оцінювати їх значущість*».

У 1926 р. А. Гарден отримав дворянський титул, його також було нагороджено медаллю Деві Лондонського королівського товариства (1935); він мав почесні вчені ступені університетів Манчестера, Ліверпуля й Афін [2–6].

Говорячи сьогодні про нобелівського лауреата Артура Гардена, слід наголосити на тому, що його основні наукові роботи присвячено дослідженню механізмів спиртового бродіння і природи ензимів, які спричинюють цей процес. Він виявив роль фосфату у перетворенні вуглеводів і встановив наявність двокомпонентних ензимів. Його дослідження стали початком вивчення хімічних реакцій, які лежать в основі життєдіяльності клітин, тобто реакцій проміжного метаболізму. А. Гардену пощастило зробити два відкриття в галузі ензимології, але не менш важливою його заслугою є заснування біохімічного журналу «*Biochemical Journal*», який став не тільки англійським науковим виданням, але й одним із найпрестижніших міжнародних часописів.

Другим нобелівським лауреатом з хімії за 1929 р. був німецько-шведський біохімік Ганс фон Ейлер-Гельпін, який отримав її також «за дослідження із ферментації цукру і ферментів (ензимів) бродіння», як і Артур Гарден.

Ганс фон Ейлер-Гельпін



Ганс фон Ейлер-Гельпін (1873–1964)

Ганс Карл Август Симон фон Ейлер-Гельпін (швед. *Hans Karl August Simon von Euler-Chelpin*) народився 15 лютого в Аугсбурзі в Німеччині і був сином капітана королівського баварського полку (в майбутньому генерала) Рігаса і Габрієли (Фіртнер) фон Ейлер-Гельпін. Його прапрадідом був великий Леонард Ейлер. Свою початкову освіту Ганс отримав у Мюнхені, Вюрцбурзі та Ульмі, а у 1884 р. він вступив до Мюнхенської академії живопису. Під час на-

вчання живописом він почав цікавитись проблемами кольору, що дало поштовх до дослідницької діяльності в галузі хімії.

У 1893 р. Ганса прийняли до Берлінського університету, де в нього були видатні викладачі: фізику він вивчав під керівництвом *Еміля Варбурга* і *Макса Планка* (нобелівський лауреат з фізики, 1918 р.), органічну хімію в *Еміля Фішера* (нобелівський лауреат з хімії, 1902 р.) [7].

Докторський ступінь він отримав у 1895 р. і деякий час проводив дослідження з фізичної хімії.

У подальшому житті і науковій роботі Гансу пощастило вдруге – він працював із видатними хіміками-нобеліантами різних років. Так, від 1896 р. до 1897 р. він працював у Геттинггенському університеті з *Вальтером Нернстом* (премія з хімії, 1920 р.), в наступному році він став асистентом у лабораторії *Сванте Арреніуса* (премія з хімії, 1903 р.) в Стокгольмському університеті, де в 1899 р. був призначений приват-доцентом. Протягом того самого періоду він продовжив дослідження під керівництвом таких нобелівських лауреатів, як *Якоб Вант-Гофф* (премія з хімії 1901 р.) і *Едуард Бухнер* (премія з хімії 1907 р.) в Берліні, де працював до 1900 р. У Парижі він зустрічався з *М. Складовською-Кюрі* (премія з фізики, 1903 р. і з хімії, 1911 р.). Всі ці видатні особистості залишили глибокий слід в його душі і вплинули на його подальшу наукову роботу.

У 1902 р. Г. Ейлер-Гельпін повернувся до Стокгольма і став шведським громадянином. У цей період його дослідження стосувались дії каталізаторів у реакціях неорганічних сполук, але поступово його наукові інтереси перейшли в галузь *органічної хімії*, особливо після того, як він ознайомився з дослідженнями Е. Бухнера з *хімії ферментації*.

У 1906 р. Г. Ейлер-Гельпін спочатку став професором загальної та органічної хімії в Стокгольмському університеті, у 1929–1937 рр. був директором біохімічного інституту Стокгольмського університету, у 1938–1948 рр. – директором Інституту органічної хімії і одночасно (від 1940 р.) – директором Вітамінного інституту.

Хоча Г. Ейлер-Гельпін мав шведське громадянство, в душі він залишався німцем. Так, коли розпочалась Перша світова війна, він домовився з керівництвом, що прочитає свій курс у Стокгольмському університеті за шість місяців, а в останні шість місяців буде служити вільнонайманим пілотом у німецькій армії. У 1916–

1917 рр. він брав участь у роботі військової місії, яка була створена для збільшення виробництва боєприпасів для Туреччини – союзниці Німеччини. Протягом останніх років війни він керував ескадрильєю бомбардувальників.

Після припинення бойових дій у 1918 р. Г. Ейлер-Гельпін став виконувати свої обов'язки на факультеті в повному обсязі, також він розгорнув дослідження з хімії ензимів. Особливо його увагу привернуло питання *ролі ензимів у процесі бродіння*. На той час було мало відомо про механізм цього процесу, за винятком окремих фактів, що були одержані *Е. Бухнером* і англійським хіміком *А. Гарденом*.

Нагадаємо, що у 1897 р. *Е. Бухнер* показав, що дріжджовий сік може спричинити ферментацію (бродіння) без наявності у середовищі живих клітин, і один із компонентів соку він назвав *зимазою*. А у 1904 р. *А. Гарден* виявив наявність двох частин у зимазі – *протеїнової і непротеїнової (козимази)*, і в 1905 р. встановив, що для процесу бродіння (перетворення цукрів) потрібен *фосфат*.

Г. Ейлер-Гельпін пішов далі. Спочатку він встановив, що для виконання своєї функції *ензим має з'єднатись з молекулою, на яку діє, тобто із субстратом*. Аби зрозуміти складний хімічний процес ферментації, необхідно було ідентифікувати кожний із *субстратів* на всіх етапах процесу. З цією метою в розчині, де проходила ферментація, він додавав *іони різних металів*, що призводило на певних стадіях до гальмування процесу. Саме такий підхід дав можливість показати, що *процес перетворення цукрів відбувається в декілька стадій*.

Якщо *А. Гарден* вважав, що *дві молекули гексози і два аніони фосфору* об'єднуються з утворенням *спирту, двооксиду вуглецю, води і фосфоровмісної сполуки*, яку він назвав *зимодифосфатом*, то Г. Ейлер-Гельпін зрозумів, що реакція відбувається значно складніше. Він показав, що фрагменти двох молекул гексози, які утворились під час розщеплення сахарози, різні. Один із фрагментів має більшу енергію, ніж інший. Крім того, фосфат приєднується до фрагмента з меншою енергією, і саме цей фрагмент поступово руйнується і перетворюється на *зимодифосфат (гексозодифосфат)*.

Окрім спостереження за перетворенням фосфату під час бродіння, Г. Ейлер-Гельпін дослідив хімічну природу молекули козимази. Завдання виявилось складнішим, ніж гадалось,

через малі розміри козимази. Використавши багатостадійний процес очищення, що був проведений з великою майстерністю експериментатора, Г. Ейлер-Гельпін одержав *висококонцентрований розчин козимази, визначив її молекулярну масу і встановив, що козимаза в своєму складі має вуглеводний компонент, фосфорну кислоту і аденін*. Він також виявив, що козимаза є компонентом ензимів, які регулюють перенесення водню в клітині і, таким чином, впливає на процес дихання. *Зараз цей коензим має назву нікотинамідаденіндинуклеотид – NAD*.

У промові під час презентації лауреатів 1929 року голова Нобелівського комітету з хімії, член Шведської королівської академії наук Х. Г. Седербаум (С. G. Söderbaum) назвав процес дослідження ферментації *«однією з найскладніших і важких проблем хімії»*.

Роботи Г. Ейлер-Гельпіна і А. Гардена про участь *фосфат-іона* в процесі бродіння зробили фундаментальний внесок у дослідження явища, яке називають метаболізмом (проміжним метаболізмом), і вивчення сполук, які утворюються в процесі хімічних реакцій в живому організмі. Але *фундаментальна роль фосфорилювання в процесах метаболізму, природа ключових ензимів*, які беруть участь у механізмах його реалізації, залишилися завданнями для майбутніх дослідників, які їх блискуче виконали, розшифрувавши детальний механізм анаеробного і аеробного перетворення вуглеводів у живих клітинах, про що йтиметься далі.

Методи дослідження ферментації цукрів, розроблені Г. Ейлер-Гельпіном і А. Гарденом стали моделлю для наступних експериментаторів, які досліджували розщеплення вуглеводів у рослинах і в м'язах тварин. Вони також запропонували науковий підхід до майбутнього аналізу *ензим-субстратної взаємодії, до з'ясування ролі ензимів і коензимів у біохімічних процесах*.

Г. Ейлер-Гельпін працював і в інших напрямках біохімії. Зокрема, він співробітничав з П. Каррером, досліджуючи вітаміни, хімічну структуру яких пізніше було встановлено нобелівськими лауреатами за 1937 р. П. Каррером, У. Н. Хоуорсом і Р. Куном [8].

У 1935 р. він почав дослідження біохімії раку. У співробітництві з Г. Хевеші (Нобелівська премія з хімії за 1943 р.) він розробив методику мічення нуклеїнових кислот, які знаходяться в пухлинах, для спостережень за їхнім станом.

Впродовж всього свого життя Х. Ейлер-Гельпін займався біохімічними дослідженнями, серед яких особливу увагу приділяв вивченню ензимів. Він завжди першим приходив до лабораторії і залишав її останнім. Майже ніхто не міг повірити в його похилий вік.

Він був визнаним авторитетом серед біохіміків, брав активну участь у висуненні кандидатів на Нобелівську премію. Ним було зроблено 40 номінацій, серед його номінантів були такі майбутні лауреати як Е. Бухнер (1907), Р. Вільштеттер (1915), Ф. Прегль (1923), Р. Зигманді (1925), І. Легмюр (1932), П. Каррер і У. Хоуорс (1937) та інші.

Пішов з життя Ганс фон Ейлер-Гельпін 6 листопада 1964 р. у Стокгольмі в 91 рік. Всього шість років він не дожив до одержання Нобелівської премії з фізіології і медицини (1970 р.) своїм сином Ульфом фон Ейлером.

Крім Нобелівської премії, Г. Ейлер-Гельпін був нагороджений Великим Хрестом Федеральної служби ФРГ (1950); мав почесні ступені університетів Стокгольма, Цюриха, Афін, Кіля, Берна, Турина і Нью-Брансвіка. Крім того, він був членом Шведської королівської академії наук, Шведської академії інженерних наук і Фінляндської академії наук, а також іноземним членом багатьох наукових товариств, зокрема АН СРСР (від 1927 р.).

Ганс фон Ейлер-Гельпін входить у дуже невелике коло тих вчених, серед предків яких були видатні дослідники свого часу. На наш погляд, цікавими видаються такі факти: його прапрадідом був великий математик *Леонард Ейлер*. Сам *Г. Ейлер-Гельпін* – нобелівський лауреат з хімії, його син *Ульф* – нобелівський лауреат з фізіології і медицини, тесть був також відомим хіміком, а дружина *Астрид Клеве* – першою в Швеції жінкою – доктором наук. Йому пощастило в житті вчитися в таких видатних вчених – нобелівських лауреатів, як *Макс Планк* і *Еміль Фішер*, працювати з *В. Нернстом*, *С. Арреніусом*, *Я. Вант-Гоффом*, *Е. Бухнером*, які істотно вплинули на наукові уподобання й інтереси Г. Ейлер-Гельпіна. У такому оточенні він був «приречений» стати нобелівським лауреатом і залишити вагомий слід у науці, яка називається біохімією [9-14].

Отже, завдяки роботам *А. Гардена* і *Г. Ейлер-Гельпіна* з дріжджовими клітинами, а також *О. Мейєргофа* і *А. Хілла* з м'язами на

початку XX ст. [1] було встановлено, що перетворення вуглеводів (цукрів) в живих клітинах до кінцевих продуктів відбувається багатостадійно за участю ензимів і що для цього перетворення необхідна наявність залишку фосфорної кислоти. При цьому утворюються фосфориловані проміжні продукти.

Але які саме проміжні продукти утворюються в процесі перетворення вуглеводів і які ензими каталізують кожну з реакцій перетворення – ці запитання залишались поки що без відповіді.

На них спробували знайти відповідь вже наступні покоління біохіміків, які отримали вагомий результат, за що також були відзначені Нобелівською премією. І це, в першу чергу, стосується робіт подружжя *Корі – Герті і Карла*.

Подружжю Корі (Герті і Карлу) було присуджено Нобелівську премію з фізіології та медицини (1947 р.) «за відкриття каталітичного перетворення глікогену» (англ. – «For their discovery of the course of the catalytic conversion of glycogen»). Цю премію вони розділили з аргентинським фізіологом *Бернардо Усаєм*.

Герті Корі



Герті Корі (1896–1957)

Корі Герті Тереза (Радниц) (англ. *Cori Gerty Theresa (Radnitz)*), народилась 8 серпня 1896 р. в Празі (в той час Чехія входила до складу Австро-Угорщини) в родині бізнесмена і керівника цукрорафінадного заводу Отто і Марти (Неуштадт) Радниць. Початкову і середню освіту Герті отримала в приватних вчителів, а потім – у гімназії в Тетхені (зараз Дечин в Чехії), яку закін-

чила в 1914 р. В цьому ж році під впливом брата матері, професора педіатрії, вона вступила до німецького університету в Празі – університет Карла Фердинанда (*Carl Ferdinand University*) – з метою вивчати медицину. Тут вона познайомилась із студентом-медиком *Карлом Ф. Корі*, з яким проводила спільні дослідження *сироваткового комплексу* – комплексу сироваткових протеїнів, які беруть участь в імунних реакціях. У 1920 р. вони одночасно отримали ступені докторів наук з медицини, того ж року одружились і переїхали до Відня. Пізніше Карл напише про Герті: *«Вона була такою самою студенткою, молодою жінкою, яка володіла шармом, життєвою силою, інтелектом, почуттям гумору і любов'ю до відкриттів, рисами, які відразу ж привернули мою увагу»*.

У Відні Герті Корі два роки працювала асистентом в Каролінській дитячій лікарні, досліджуючи кретинізм у дітей (уроджену недостатність щитоподібної залози).

Слід зазначити, що на той час в Європі після Першої світової війни панував розбрат і антисемітизм. Подружжя Корі зрозуміло, що в таких умовах неможливо нормально займатися науковою роботою, оскільки Герті за національністю була єврейкою. До того ж у неї розвинулись симптоми ксерофтальмії (висихання рогівки ока, гіповітаміноз А), спричинені нестачею харчування. Тому подружжя вирішило покинути Старий світ і переїхати до Сполучених Штатів.

У 1922 р. Карл Корі отримав роботу біохіміка в Баффало (англ. *Buffalo*), штат Нью-Йорк, в Нью-Йоркському державному інституті злоякісних утворень (в подальшому Інститут раку імені Розуелла Парка (*Roswell Park Cancer Institute*)). Але Герті там місця для роботи не було; тільки через півроку Карл знайшов їй місце спочатку асистента-патологоанатома, а пізніше вона стала працювати асистентом – біохіміком.

У 1923 р. Герті сама опублікувала серію статей про вплив рентгенівських променів на шкіру і на метаболізм органів тіла. Можливо, ці ранні роботи з джерелами випромінювання призвели пізніше до летального захворювання її кісткового мозку – *мієлосклерозу*.

А поки що подружжя зацікавилось обміном вуглеводів у тканинах в нормі і в злоякісних пухлинах. Крім того вони вивчали вплив *оваріоектомії* на ріст злоякісних клітин.

Характерною рисою дослідницької роботи Герті була виключна відповідальність і точність

проведення експериментів. Вона рішуче виступала проти дилетантства в науці. *«Карл не був генієм лабораторії, – зазначив В. Догедей з Вашингтонської медичної школи. Карл скоріше був спостерігачем, а генієм лабораторії була Герті. Вона була всеїдною в наукових інтересах, видавала нові ідеї. Вони обговорювали їх разом. Герті читала дуже багато і глибоко. Вона була дійсним генератором ідей, багато з яких Карл брав у неї і перетворював у концепції. Роль Герті в біології була великою. Без неї Карл не працював би так напружено і не зробив би так багато»*. І тому закономірно, що в наукових публікаціях її прізвище, звичайно, було першим.

У 1928 р. подружжя Корі отримали американське громадянство, а три роки потому переїхали до Сент-Луїса (штат Міссурі) для роботи в медичній школі Вашингтонського університету, де чоловіку запропонували посаду професора фармакології, а Герті (хоча вона вже була відомим науковцем) – лише посаду наукового співробітника із зарплатою в одну десяту від зарплати чоловіка. Фінансування наукових досліджень Г. Корі було настільки малим, що вона змогла їх проводити тільки разом з чоловіком.

Продовжуючи дослідження обміну вуглеводів, Г. і К. Корі звернули особливу увагу на *перетворення глюкози і глікогену* в тканинах тварин. *Глікоген* було виявлено в 1857 р. французьким фізіологом *Клодом Бернаром*. В клітинах печінки експериментальних тварин він знайшов велику кількість крохмалеподібної речовини. *Полісахарид глікоген* дійсно, як і *полісахарид крохмаль*, складається з молекул α -D-глюкози, але має більш розгалужені молекули, подібні до амілопектину крохмалю. Його ще називають «тваринний крохмаль». Лінійні відрізки основного ланцюга глікогену вміщують 6–12 залишків молекули глюкози, з'єднаних α -1,4-глікозидними зв'язками; розгалуження формується завдяки α -1,6-глікозидним зв'язкам. Найбільша кількість глікогену міститься в печінці (2–5%) та хребетних м'язах (0,5–2%). За норми в печінці людини у вигляді *глікогену* знаходиться запас *глюкози* приблизно на три дні. А саме *глюкоза* є основним джерелом енергії для життєдіяльності клітин.

Яким чином *глюкоза* потрапляє до печінки і як з неї синтезується запасний вуглевод *глікоген*? Цим питанням і зацікавились Герті і Карл Корі. Було відомо, що крохмаль (амілоза і амі-

лопектин) з їжею надходить у кишечник і за дії ензиму підшлункової залози *амілази* розщеплюється до молекул глюкози. Потім глюкоза крізь стінки тонких кишок переходить у кров і судинами воротної вени переноситься до клітин печінки, де перетворюється на глікоген і накопчується для подальшого використання; глікоген знову може розщеплюватись до глюкози і віддавати її у кров. Але як відбувається біосинтез глікогену і його розщеплення біохімікам не було відомо. Внаслідок ретельно проведених досліджень у 30–40-х р. XX ст. саме Герті і Карл Корі розшифрували біохімічні реакції, які беруть участь у синтезі і розщепленні глікогену. Тому повний цикл цього взаємного перетворення назвали **цикл Корі**.

У 1936 р. Г. і К. Корі виявили й ізолювали *глюкозо-1-фосфат* із м'язів жаби, який згодом було названо *ефіром Корі*. Дещо пізніше вони встановили *біохімічний механізм дії інсуліну* – гормону, який синтезується в клітинах острівців Лангерганса підшлункової залози і надходить у кров. Нестача інсуліну в організмі людини зумовлює захворювання – *цукровий діабет* першого типу.

Досліджуючи перетворення глюкози в глікоген Г. і К. Корі спочатку описали перехід *глюкозо-6-фосфату* в *глюкозо-1-фосфат* (і зворотний процес) за дії ензиму *фосфоглюкомутази*, а потім перетворення *глюкозо-1-фосфату* у *фруктозо-1-фосфат* за участю ензиму *фосфогексоізомерази* (1938–1939 рр.). З цього часу подружжя зацікавилось *ензимологією*, звернувши особливу увагу на печінку. П'ять років потому за виділення і очищення до кристалічної форми ензиму *фосфорилази* вони виявили, що цей ензим існує як в активному, так і в неактивному стані. Ці дві форми одного ензиму вони назвали відповідно *фосфорилазою «а»* і *фосфорилазою «б»*, а пізніше встановили біохімічні умови, за яких має місце перетворення неактивної форми *фосфорилази* в активну.

Апогеєм цих досліджень стало проведення у 1944 р. *синтезу глікогену в пробірці*. Вихідними речовинами були: *коротколанцюговий глікоген*, *глюкоза*, *фосфат* і три ензими – *гексокіназа*, *фосфоглюкомутаза* і *фосфорилаза*. У такий спосіб Корі підтвердили свою гіпотезу відносно синтезу глікогену з глюкози в три етапи. Тобто, на першому етапі *глюкоза фосфорилується гексокіназою* з утворенням *глюкозо-6-фосфату*.

Але глікоген із цієї сполуки не утворюється. Тому на другому етапі за участю *фосфоглюкомутази* *глюкозо-6-фосфат* перетворюється на *глюкозо-1-фосфат*, з якого за участю *фосфорилази* і синтезується *глікоген*. За розщеплення глікогену реакції перетворення проходять у протилежному напрямі, а на останньому етапі замість *гексокінази* діє ензим *фосфатаза*.

За такою схемою синтезується лінійна структура глікогену, де молекули глюкози з'єднуються *α -1,4-глікозидними зв'язками*. Але ж глікоген – це компактно розгалужена молекула. І, дійсно, Г. Корі виявила ще один ензим, який бере участь у синтезі і розщепленні розгалуженої форми глікогену з утворенням *α -1,6-глікозидних зв'язків*.

Запропонований Г. і К. Корі механізм синтезу і розщеплення глікогену в печінці та м'язах тварин і людини, доповнений і деталізований іншими дослідниками, залишається загальноприйнятим й *домінер*. Незважаючи на всі ці видатні наукові відкриття, Герті Корі тільки в 1944 р. отримала посаду ад'юнкт-професора біохімії в медичній школі Вашингтонського університету, а за три роки стала професором з біохімії.

Слід також зазначити, що до робіт Корі вважалося, що глікоген у печінці і м'язах, як і крохмаль в кишечнику розщеплюється за дії *амілази* (амілолітичний шлях). Але вони *чітко продемонстрували роль у цьому процесі ензиму фосфорилази, тобто запропонували фосфоролітичний шлях перетворення глікогену в тканинах людини і тварин*.

За таку складну, кропітку біохімічну роботу, яка відкрила одну із сторінок життєдіяльності людини, подружжю Корі – Герті і Карлу було присуджено Нобелівську премію з фізіології та медицини у 1947 р. з коротким формулюванням «за відкриття каталітичного перетворення глікогену». Цю премію вони розділили з аргентинським фізіологом *Бернардо Усаєм*. У вітальній промові дослідник з Каролінського інституту *Аксель Хуго Теорелль* (швед. *Axel Hugo Theorell*) зазначив, що «для хіміків безперечним доказом шляху утворення речовини є його синтез. Професор і доктор Корі домоглися дивовижних результатів – вони змогли синтезувати глікоген в пробірці за участю набору ензимів, які вони виділили в чистому стані і розкрили при цьому механізм їх дії... Ензими, які одержали Корі, до-

зволили здійснити цей синтез так, як вони каталізують певні реакції утворення хімічних зв'язків в організмі. За допомогою одних лише методів органічної хімії здійснити це було б неможливо». Він також додав, що відкриття подружжям Корі ензиматичного механізму зворотних перетворень глюкози є *«одним із найвидатніших досягнень сучасної біохімії»*.

Герті Корі стала не тільки першою жінкою, яка отримала Нобелівську премію в галузі фізіології та медицини, а й першою жінкою – нобеліанткою в Сполучених Штатах, а також третьою (після Марії Кюрі-Склодовської та її доньки Ірен Жоліо-Кюрі) – в усьому світі.

Після одержання премії Герті продовжувала досліджувати хімічну будову *глікогену* і на початку 50-х років XX ст. встановила *біохімічні порушення*, які є причиною *глікогенозів*. За цих захворювань глікоген накопичується в клітинах печінки та інших тканин у кількості, що значно перевищує фізіологічну. Вона показала, що *глікогенози* є групою захворювань, які пов'язані з нестачею певних ензимів, що беруть участь у перетворенні глікогену. Це було темою її останньої опублікованої роботи в 1957 р.

Герті завжди пам'ятала, яким важким був її шлях до визнання і особливо приязно відносилась до жінок-науковців.

В останні роки життя Герті страждала *мієлосклерозом* – важкою хворобою, за якої кістковий мозок поступово замінюється волокнистою сполучною тканиною. Вона впродовж 10 років боролась із цією хворобою, постійно роблячи переливання крові, але не залишала наукові дослідження.

Герті Корі пішла з життя 26 жовтня 1957 р. в себе вдома у Глейделі (штат Міссурі). Після її смерті вчені з усіх частин Сполучених штатів зібрались на панахиду в Сент-Луїсі. Вони прослухали магнітофонний запис, який Герті зробила для телевізійного фільму Едварда Мерроу *«У що я вірю»*. *«В житті вченого, – казала Герті, – бувають такі рідкісні хвилини, які не забуваються, коли після багаторічної важкої роботи завіса з таємниці природи водночас спадає і те, що вважалося у п'ятні і хаосі, стає світлим і гармонійним»*. А Бернардо Усай якось сказав, що життя Герті Корі було *«прекрасним прикладом служіння ідеалам... прогресу науки і блага людства»*.

Спільна робота подружжя Корі не обмежувалась лабораторними стінами. Обидва вони

полюбили походи, займались альпінізмом в австрійських Альпах і в американських Скелястих горах. Крім того, вони любили грати в теніс, кататися на ковзанах і працювати в саду. У них був один син.

Герті Корі була нагороджена в 1947 р. премією Сквібба ендокринологічного товариства (разом з Карлом Корі), медаллю Гарвена Американського хімічного товариства (1948 р.) і премією Бордена за медичні дослідження Американської асоціації медичних коледжів (1951 р.). Вона була членом Американського товариства біохіміків, Національної академії наук США, Американського хімічного товариства, мала почесне звання Бостонського, Йельського, Колумбійського і Рочестерського університетів, а також Сміт-коледжа. В 1979 р. Міжнародна астрономічна спілка дала ім'я Герті Терези Корі кратеру на зворотному боці Луни [15-20].

А тепер мова піде про її чоловіка Карла Корі – людину, яка йшла пліч-о-пліч з Герті по життю і в наукових дослідженнях.

Карл Фердинанд Корі



Корі Карл Фердинанд (1896–1984)

Корі Карл Фердинанд (англ. *Cori Carl Ferdinand*) австрійсько-американський біохімік, народився 5 грудня 1896 в Празі (Чехія тоді входила до складу Австро-Угорщини) в родині Марії (Ліббіх) і Карла Корі, професора зоології Празького університету. Коли Карлу було два роки, його родина переїхала до Трієста (Італія), де батько отримав посаду директора морської біологічної станції. Свої ранні роки Карл провів у Трієсті в мультикультурному національному

середовищі і дуже швидко навчився вільно говорити італійською мовою, про що написав в автобіографічному есе «Зов науки». Навчаючись у класичній гімназії в Празі і Трієсті від 1906 р. до 1914 р., він оволодів ще основами латинської та грецької мов.

Родина Карла пишалась своїми родичами – відомими вченими в різних галузях науки. Так, Фердинанд Ліббіх – дід з боку матері, був професором математичної фізики Німецького інституту в Празі і зробив значний внесок у теоретичну фізику. Прадід Карла – Вільгельм Ліббіх – був анатомом в університеті Падуї і професором у Відні. Його дядько Фрідріх Ліббіх був професором хімії в Празі, а батько – Карл Ісідор Корі – одним із визначних зоологів і біологів, дослідників морського середовища в Європі. Зрозуміло, що і молодий Карл обрав наукову кар'єру.

У 1914 р. він вступив до Університету Карла Фердинанда (німецький університет у Празі) і почав вивчати медицину. На той час це був стандартний шлях до дослідницької кар'єри. Але з початком Першої світової війни Карл був вимушений перервати навчання. Його було мобілізовано до австрійської армії, де він служив офіцером санітарної служби на італійському фронті.

Після закінчення війни Карл повернувся до університету для завершення навчання. Йому пощастило зустріти там талановиту і чарівну студентку Герті Радниц, яка поділяла його інтереси в науці і любов до подорожування. У 1920 р. вони обидва отримали дипломи і одружились у Відні, де Карл Корі працював асистентом у Першій медичній клініці Відня протягом двох років, а потім асистентом із фармакології в університеті Граца. В той час Герті працювала асистентом у Каролінській дитячій лікарні.

На дослідження К. Корі активності блукаючого нерва жаби звернув увагу Х. Х. Мейєр, який запропонував його кандидатуру доктору Гайлорду, директору Державного інституту з вивчення злоякісних новоутворень (тепер – Інститут раку імені Розуелла Парка (Roswell Park Cancer Institute) в Баффало (США). У 1922 р. К. Корі отримав пропозицію працювати в цьому Інституті біохіміком, а Герті приєдналась до нього через шість місяців потому. В Сполучених Штатах Карл добре оволодів мовою, законами і традиціями цієї держави, але він був і завжди залишався сином європейської культури, яка його виховала. У 1928 р. подружжя отримало громадянство США.

У Баффало К. Корі разом з Герті розпочав вивчати метаболізм вуглеводів і його регуляцію – роботу всього свого життя. За час роботи в Баффало К. Корі разом з дружиною опублікував біля 80 наукових статей. В своїй нобелівській лекції він сказав: «Наші зусилля були в основному комплементарними; ні один з нас не просунувся би так далеко без допомоги один одного».

Роботи подружжя Корі у Баффало довели значення інсуліну і епінефрину (адреналіну) для підтримки нормальної концентрації глюкози в крові і глікогену в печінці та м'язах.

У 1931 р. Карл і Герті Корі переїхали до Сент-Луїсу, де Карл зайняв посаду голови фармакологічного факультету Вашингтонського університету, а Герті отримала посаду наукового співробітника. Тепер, крім наукових досліджень, К. Корі був повинен займатись організаційною роботою, обладнанням і витрачати багато часу на викладацьку роботу. Тому основну наукову роботу і реалізацію їхніх ідей виконувала Герті. Результати цієї роботи наведені в попередньому нарисі про Г. Корі.

Слід тільки зазначити, що для доказу структури *α -глюкозо-1-фосфату* Герті і Карл Корі синтезували цю речовину, яка і була названа пізніше «*ефіром Корі*». Відкриття Г. і К. Корі механізму синтезу і розщеплення глікогену в печінці і м'язах тварин дало потужний імпульс для розвитку біохімічної науки в цілому; значення цього відкриття важко переоцінити. В той самий час Якоб К. Парнас провів самостійне дослідження реакцій в м'язових екстрактах і зробив висновок, що одночасно з розщепленням глікогену зникає фосфат; таку реакцію він назвав «*фосфоролізом*».

Після закінчення Другої світової війни К. Корі залишив фармацевтичний факультет і став головою біохімічного відділення (1945 р.), а вчені з усього світу з'їжджались до Сент-Луїсу, щоб попрацювати з Г. та К. Корі, де вони отримували підтримку і приязнь обох Корі.

К. Корі у 1947 р. було удостоєно Нобелівської премії з фізіології та медицини «за відкриття каталітичного перетворення глікогену» разом з дружиною Г. Корі, і яку вони розділили з доктором *Бернардо Усаєм* з Аргентини.

В 1956 р. колегами з Університету Вашингтона було опубліковано статтю, присвячену досягненням подружжя Г. і К. Корі. В спеціальному випуску *Biochemica Biophysica Acta* було

надруковано главу під назвою: «Збірка статей, присвячена Карлу Ф. і Герті Т. Корі в зв'язку з їхнім 60-річчям». Серед її авторів було п'ять майбутніх Нобелівських лауреатів, роботи яких були близькі до наукових інтересів Г. і К. Корі – це С. де Дюве, А. Корнберг, Л.Ф. Лелуар, С. Очоа і Е. Сазерленд.

У 1966 р. К. Корі пішов з Вашингтонського університету і був призначений професором-консультантом з біохімії в медичній школі Гарвардського університету, де він до останніх днів життя продовжував проводити дослідження. Карл Корі залишив незабутній слід у Вашингтонському університеті прикладом високих стандартів і великою ефективністю роботи його наукової групи.

У 1984 р. у віці 87 років К. Корі пішов з життя в своєму домі в Кембріджі (штат Массачусетс).

Окрім Нобелівської премії Карл Корі мав багато інших нагород: премія Ласкера Американської асоціації охорони здоров'я (1946 р.), премія Скибба Ендокринологічного товариства (разом з Герті, 1947 р.), медаль Уїлларда Гіббса Американського хімічного товариства (1948 р.). Його було удостоєно почесним науковим ступенем багатьох університетів – Кембриджа (Англія), Гранади (Іспанія), Монаша (Monash University, Австралія), Трієста (Італія). К. Корі був також членом багатьох престижних наукових академій і товариств, зокрема Американської академії наук і мистецтв, Американської асоціації сприяння розвитку науки, Американської філософської спілки та спілки біохіміків. Він був також членом багатьох іноземних академій і товариств. На його честь названо астероїд (6175) Cori.

К. Корі написав значну кількість історичних і філософських робіт про взаємодію науки і людства. Крім автобіографічного есе, він написав статті про багатьох вчених, яких добре знав, таких як Френсіс Шмідт, Ерл Сазерленд, Джеймс Лето, Густав Ембден, а також про Герті Корі.

Закінчити розповідь про особистість Карла Корі хочеться його ж словами: «Грані фізики, астрономії та біології, а також інструмент їхнього пізнання – людська свідомість наповнюють кожного таким самим захопленням, як і великі витвори живопису й архітектури. Із цього, а також з пізнання природи, з любові і дружби

б'є джерело радості життя, розуміння суму та людської долі. Гуманізм може бути настільки ж важливим для людства, як і успіх в окремих галузях науки».

У біографічних мемуарах, опублікованих у 1986 р., видатний дослідник цукрового діабету сер Філіп Рендл відзначив, що для досліджень Карла і Герті Корі «перш за все була характерна інтелектуальна суворість щодо експериментальних методів (фізіологічних і хімічних), глибоке знання і критичний підхід до літератури, неупереджений, хоча іноді і різнобічний, аналіз розбіжностей, високий ступінь відтворення експериментів і старання відношення до деталей, особливо за формулювання гіпотез» [21-25].

Декілька слів про наукові досягнення колеги нобелівських лауреатів Г. і К. Корі – аргентинського фізіолога Б. А. Усай.

Бернардо Усай



Бернардо Усай (1887–1971)

Усай Бернардо Альберто (англ. *Bernardo Alberto Houssay*) народився 10 квітня 1887 р. в Буенос-Айресі (Аргентина). Закінчив у 1909 р. університет у Буенос-Айресі і отримав медичний ступінь магістра. Від 1919 р. він був професором кафедри фізіології в університеті Буенос-Айреса, де досліджував ендокринну систему і був першим вченим, який показав провідну роль гіпофіза в обміні речовин.

Протягом 20–30-х років ХХ ст. Б. Усай провів детальне дослідження ендокринної, серцево-судинної і дихальної систем, а також органів травлення. Завдяки цим роботам його вважа-

ли блискучим фізіологом, який знаходився на передньому краї медичних досліджень. Один з його колег відзначив: «*Не дивлячись на те, що Б. Усай ніколи не турбувався про пріоритети, він був завжди в перших рядах*».

Найзначнішими були його дослідження *ендокринної системи*. Він першим вивчив діяльність гіпофіза в обміні речовин, а також виявив його регуляторні зв'язки з іншими ендокринними залозами. Особливо його цікавило питання про вплив гормонів гіпофіза на вуглеводний обмін й їхній зв'язок із цукровим діабетом.

Внаслідок проведених досліджень Б. Усай встановив, що інсулін і гормони гіпофіза протилежно впливають на вміст глюкози в крові та її утилізацію клітинами. Підтримання нормального вмісту глюкози та її метаболізм відбувається завдяки взаємодії гормонів гіпофіза й інсуліну підшлункової залози. Результати фундаментальних досліджень Б. Усай привели до *створення нових основних положень щодо ролі гормональних систем в регуляції обміну речовин у людей*.

Саме «*за відкриття ролі гормонів передньої долі гіпофіза в метаболізмі глюкози*» (англ. – «*For his discovery of the part played by the hormone of the anterior pituitary lobe in the metabolism of sugar*») Бернардо А. Усай отримав Нобелівську премію з фізіології та медицини за 1947 р., поділивши її з Г. і К. Корі. Завершуючи нобелівську лекцію, Б. Усай підсумував дослідження ролі гіпофіза таким чином: «*Метаболізм вуглеводів та інші метаболічні процеси регулюються завдяки балансу, який підтримується секрецією декількох ендокринних залоз. Діабет та інші захворювання обміну речовин є наслідком порушення ендокринного балансу. Існує безліч невирішених проблем у цій галузі, але без сумніву можна сказати, що гіпофіз – це один з найважливіших органів у регуляції обміну речовин і він займає центральне місце в ендокринній системі*».

Невтомний вчений, за своє життя Б. Усай опублікував (самостійно або в співавторстві) майже 500 наукових статей і декілька монографій. Його було відзначено численними нагородами за наукові досягнення, почесними ступенями 28 університетів різних держав. Він був патріотом Аргентини і тоді, коли уряд президента Рамона Кастильо було скинуто внаслідок військового перевороту в 1943 р., він разом з групою вчених звернувся до уряду із закликом повернути конституційне правління і демократичні вибори. За це він постраждав: його звіль-

нили з університету і ліквідували його наукову лабораторію. Але він не здався і продовжував працювати в приватній науковій лабораторії поки не був скинутий військовий режим Хуана Перона в 1955 р. [26, 27].

Всі геніальні ідеї народжуються не на пустому місці, вони з'являються в мізках вчених після довгих років фундаментальних досліджень, коли вже накопичено великий багаж знань і проведено велику кількість експериментів.

Так, фундаментальні дослідження Герті та Карла Корі привели до *розшифрування одного з центральних шляхів метаболізму вуглеводів – глікогенолізу, синтезу і розщеплення глікогену в тканинах людини і тварин, який було названо на їх честь – цикл Корі*. Вони не тільки відкрили ензими, завдяки яким відбувається перетворення глікогену, але й виділили їх у чистому кристалічному стані. І що дуже важливо, вони підтвердили свої припущення синтезом глікогену *in vitro*, тобто в пробірці. Необхідно підкреслити важливість ще одного їхнього відкриття – вони встановили наявність *двох форм фосфорилази: активної (а) і неактивної (б)*. Біохімічний і регуляторний механізм перетворення неактивної форми фосфорилази в активну продемонстрував пізніше їхній учень, нобелівський лауреат з фізіології та медицини за 1971 р. Ерл Сазерленд. Те, що зараз відомо в біохімії, як анаеробне перетворення вуглеводів у клітинах тварин і людини – це заслуга Герті та Карла Корі. Спадок пари Корі – це також декілька поколінь вчених – їхніх учнів і співробітників, серед яких не менше шести лауреатів Нобелівської премії, які працювали під їх керівництвом у Вашингтонському університеті. Це Кристіан де Дюв, Артур Корнберг, Ганс Кребс, Луї Лелюар, Северо Очоа і Ерл Сазерленд.

Роботи, розпочаті подружжям Г. і К. Корі, продовжив їхній учень Ерл Сазерленд, який зацікавився дослідженням ензиму *фосфорилази, а пізніше механізмом регуляції його активності*. У 1971 р. йому було присуджено Нобелівську премію з фізіології та медицини «*за відкриття, що стосуються механізму дії гормонів*». Фактично Е. Сазерленд продовжив дослідження, розпочаті раніше Б. Усаєм, але вже на новому, молекулярному рівні.

Якою ж людиною, яким науковцем був Е. Сазерленд і який прорив у механізмі регуляції гормонів він зробив? Саме це ми досліджуємо в наступному нарисі.

Ерл Сазерленд



Ерл Сазерленд (1915–1974)

Американський біохімік **Сазерленд Ерл Уїлбур** (англ. *Sutherland Earl Wilbur*) народився 19.11.1915 р. в Східному Канзасі, в маленькому містечку Берлінгеймі. Його батько, з таким же ім'ям, як у сина (тому сина називали Сазерленд молодший), протягом 10 років працював фермером у Нью-Мексико в Оклахомі, а потім переїхав до Берлінгейма, де за допомогою дружини Едит (Хартшорн) і дітей розпочав мануфактурну справу. В дитинстві Ерл багато часу проводив у полі, в лісах, і з того часу зберіг любов до природи. В школі він активно займався баскетболом, футболом, тенісом. Інтерес юного Ерла до біології і медицини викликала книга Поля де Крюї (також де Крайф, англ. – Paul de Kruif) «*Мисливці за мікробами*», в якій дуже яскраво було описано роботи Луї Пастера та інших видатних вчених-медиків.

У 1933 р. С. Ерл вступив до Уошберн-коледжу в м. Топіка (штат Канзас). В період великої депресії в США його батьки повністю збанкрутували і на цьому навчання молодого людини могло б закінчитись, але Ерл отримував стипендію та підробляв санітаром у місцевій лікарні, що дало йому можливість продовжити освіту. В 1937 р. він отримав диплом бакалавра і почав вивчати медицину в медичній школі Вашингтонського університету в Сент-Луїсі. Курс фармакології там викладав Карл Корі, і Ерл став його студентом. Він привернув увагу К. Корі своєю наполегливою роботою, бажанням вчитися, і останній запропонував йому посаду студента-лаборанта. Завдяки цьому Ерл не тільки зміг продовжити навчання, але й отримав уявлення відносно того,

що таке наукова робота, а також встановив теплі дружні відносини з подружжям Корі.

У 1942 р. Е. Сазерленд отримав медичний диплом і, бажаючи займатися практичною медициною, вступив інтерном до шпиталю Барнса в Сент-Луїсі. Наприкінці Другої світової війни його було мобілізовано до армії, де він працював спочатку батальйонним хірургом, а потім лікарем у військовому шпиталі в Німеччині.

У 1945 р. Е. Сазерленд демобілізувався і повернувся до Сент-Луїса. Тут перед ним постала проблема вибору – займатися практичною медициною далі або перейти на наукову роботу. Пізніше він напише: «*Корі переконав мене – не стільки словами, скільки особистим прикладом – що мені слід зайнятися дослідницькою роботою*».

Протягом наступних восьми років Е. Сазерленд працював на факультеті біохімії Вашингтонського університету спочатку викладачем, а потім ад'юнкт-професором. В цей час його цікавило два питання. *По-перше, його цікавила дія фосфорилази – ензиму, який каталізує розщеплення глікогену в печінці та м'язах. По-друге, яким чином гормони: адреналін мозкового шару надниркових залоз і глюкагон із підшлункової залози спричиняють вивільнення глюкози із глікогену печінки.*

У 1953 р. Е. Сазерленд очолив факультет фармакології Університету Вестерн-Резерв у Клівленді. На цей час він встановив, що перший етап розщеплення глікогену в екстрактах із печінки стимулюється адреналіном або глюкагоном, а потім каталізується фосфорилазою. Досліджуючи фосфорилазу, він виявив, що в екстрактах печінки є ще *два ензими*: один з них перетворює активну фосфорилазу в неактивну і при цьому вивільнюється неорганічний фосфат, а другий – реактивує неактивну форму фосфорилази в активну, і при цьому використовується неорганічний фосфат. *Цей цикл реакцій фосфорилювання – дефосфорилювання є одним з найважливіших регуляторних процесів.* А наявність активної та неактивної форми фосфорилази виявили ще Г. та К. Корі.

У той самий час біохіміки з університету штата Вашингтон в Сіетлі *Ервін Кребс* і *Едмунд Фішер* знайшли подібний ензим у м'язах і показали, що реактивація фосфорилази в м'язовій тканині відбувається у присутності АТР і ензиму, який зараз відомий під назвою кінази *фосфо-*

рилази. Е. Сазерленд знав про ці досліді і тому разом із співробітником *Теодором Роллом* вони поставили такий експеримент. До препаратів з неактивною фосфорилазою вони додавали АТР і гормони з тим, щоб з'ясувати, які гормони стимулюють реакцію активації фосфорилази. *Результати досліджень показали, що в безклітинних екстрактах як адреналін, так і глюкагон спричинюють активацію фосфорилази. Оскільки на той час вважали, що гормони впливають в цілому на клітину, то експеримент Е. Сазерленда вперше показав, що гормони впливають на обмін вуглеводів на молекулярному рівні. Це дало можливість інакше подивитись на механізм дії гормонів. Це була сенсація.*

Е. Сазерленд продовжив свої дослідження і виявив раніше невідому хімічну сполуку – циклічний 3',5'-аденозинмонофосфат – ц-АМФ (с-АМР). Саме ця сполука сприяла перетворенню неактивної форми фосфорилази в активну і відповідала за вивільнення глюкози в клітині. Відкриття с-АМР дозволило Е. Сазерленду сформулювати гіпотезу про наявність *вторинних посередників – месенджерів у дії гормонів*. Ця гіпотеза пояснювала яким чином гормони передають сигнали тканинам – мішеням. Е. Сазерленд вважав, що такі гормони як адреналін і глюкагон є *первинними посередниками*, які виділяються з тканин, де вони утворились, у кров і кров'ю переносяться до тканин-мішеней. Там вони зв'язуються з рецепторами на зовнішній поверхні мембран клітин, що слугує сигналом для клітини до підвищення активності *аденілатциклази*, яка знаходиться на внутрішній поверхні мембрани. У свою чергу активація *аденілатциклази* зумовлює утворення с-АМР, що є *вторинним посередником (медіатором) і яка стимулює специфічні функції багатьох ензимів у клітині*. Це пояснює, чому глюкагон і адреналін однаково впливають на клітини печінки.

Спочатку відкриття циклічного АМР не привернуло уваги більшості вчених. Але пізніше в наукових колах було визнано, що Е. Сазерленд відкрив новий загальний механізм дії багатьох гормонів – новий біологічний принцип. *Пізніше він виявив, що аденілатциклазу можуть активувати не тільки адреналін і глюкагон, а й інші гормони. Крім того с-АМР діє не тільки на фосфорилазу, а ще й на інші ензимні системи.*

У 1963 р. Е. Сазерленд отримав посаду професора фізіології в Університеті Вандербільта

в Нешвіллі (штат Теннессі) і мав можливість більше часу приділяти науковим дослідженням з с-АМР. Так, разом з колегами він показав, що ця сполука є вторинним менеджером для понад 12 гормонів ссавців. Крім того, виявилось, що с-АМР бере участь у регуляції активності нервових клітин, в експресії генів у бактерій. *Наявність с-АМР як у багатоклітинних, так і одноклітинних організмах свідчить про те, що ця сполука стала регулятором клітинних обмінних процесів на дуже ранніх стадіях еволюції.*

У 1971 р. Ерлу Сазерленду було присуджено Нобелівську премію з фізіології та медицини одноосібно «за відкриття, що стосуються механізмів дії гормонів». Під час вручення нагороди дослідник з Каролінського інституту *Пітер Рейхард (Peter Reichard)* відзначив, що хоча про існування гормонів було відомо вже давно, механізм їхньої дії до робіт Е. Сазерленда був повною загадкою. Відкриття с-АМР виявило «*один з фундаментальних принципів практично всіх процесів життєдіяльності*».

Відкриття с-АМР привело до появи нових напрямів в різних галузях науки – від ендокринології до онкології та навіть психіатрії. За словами самого Е. Сазерленда ця сполука «*впливає на все – від пам'яті до кінчиків пальців*». У 1971 р. він почав вивчати ще й циклічний 3',5'-гуанозинмонофосфат (ц-ГМФ, с-ГМР), який також широко розповсюджений в тканинах ссавців і інших тварин.

У 1973 р. він перейшов до університету в Маямі, але в наступному році (1974 р.) 3 вересня, Е. Сазерленд пішов з життя від сильної кровотечі у стравоході. Йому було всього 58 років і він міг би зробити ще багато наукових відкриттів. Сучасники вважали Е. Сазерленда відкритою, товариською і доброзичливою людиною. За словами Карла Корі, який пережив свого учня на 10 років і написав про нього спогади, Ерла Сазерленда вирізняють декілька рис. «*Перше і, мабуть, найголовніше – це те, що він мав дар інтуїції. Він вмів виконати потрібний експеримент у найнеобхідніший час, не завжди чітко розуміючи чому він це так робить. По-друге, його інтуїція була розвинена настільки, що народжувала дивовижні захоплення. По-третє, він був прекрасним лабораторним дослідником, який міг згадати будь-який експеримент, який було поставлено колись ним та його співробітниками*». За словами К. Корі, до наведеного слід

додати такі його риси як «честолюбність, велику енергію, а також яскравість і оригінальність рішень».

Крім Нобелівської премії, Е. Сазерленда було удостоєно премії Торалла Соллмена в галузі фармакології Американського товариства фармакології та експериментальної терапії (1969), премії Діксона з медицини Пітсбурзького університету (1970), премії Альберта Ласкера за фундаментальні медичні дослідження (1970) і премії за наукові досягнення Американської кардіологічної асоціації (1971). Він був членом кількох Американських наукових товариств, мав почесні ступені Йельського і Вашингтонського університетів [28-33].

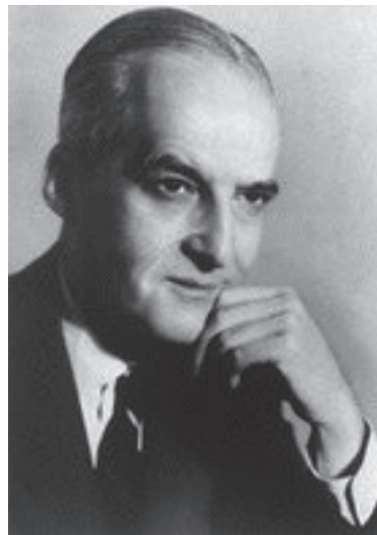
Яскрава особистість, прекрасний експериментатор і науковець – Ерл Сазерленд – відкрив завісу, яка знаходилась за сімома печатками. Він розшифрував механізм регуляції основних метаболічних перетворень гормонами на прикладі дії фосфорилази. Стало зрозуміло, що сигнал на подальше включення каскаду біохімічних реакцій передається вторинними посередниками, або месенджерами, тобто біомолекулами, які трансформують інформацію від первинного месенджера-гормона на ефекторні системи клітин. Його дослідження встановили універсальність с-АМР як вторинного месенджера в передачі сигналів біологічно активних сполук на клітину і стали хрестоматійними, увійшовши в навчальні підручники всього світу.

Роботи Е. Сазерленда стали стимулом для пошуку й інших вторинних посередників, що привело до виявлення циклічного гуанозинмонофосфату, фосфоінозитидної системи, Са-кальмодуліну, NO тощо. Подальша деталізація молекулярного механізму дії гормонів на клітини-мішені надала можливість відкрити в клітинній мембрані G-протеїни, протеїни-трансдуктори, які є зв'язуючим ланцюгом між гормонорецепторним комплексом і аденілатциклазою. Отже, роботи Е. Сазерленда привели до повного розшифрування механізму дії пептидних гормонів.

Ще одним науковцем, який був учнем Карла Корі і на напрямок досліджень якого він вплинув – це аргентинський біохімік Луїс Лелуар, який також досліджував перетворення вуглеводів, але зацікавився не їх розщепленням, а синтезом і відкрив першу реакцію в біосинтезі вуглеводів за участю уридиндифосфатглюкози.

Нобелівську премію було присуджено Л. Лелуару в 1970 р. з хімії «за відкриття першого цукрового нуклеотиду та дослідження його функцій в перетворенні цукру і в біосинтезі складних вуглеводів» (англ. – «for his discovery of sugar nucleotides and their role in the biosynthesis of carbohydrates»). Доля цього дослідника пов'язана з долею Аргентини і його народом.

Луїс Федеріко Лелуар



Луїс Федеріко Лелуар (1906–1987)

Лелуар Луїс Федеріко (ісп. *Leloir Luis Federico*) народився 6 вересня 1906 р. в Парижі, де в той час були його батьки Федеріко і Ортенсія (Агуїрре) Лелуар. Хлопчику виповнилося два роки, коли родина повернулась до Буенос-Айреса, де він навчався спочатку в школі, а потім у 1932 р. закінчив університет в Буенос-Айресі й отримав медичний диплом. Два роки Луїс працював в університетській лікарні, після чого перейшов до університетського Інституту фізіології. Тут йому пощастило працювати під керівництвом відомого аргентинського фізіолога *Бернардо Усая (Houssay)*, нобелівського лауреата в галузі фізіології і медицини за 1947 рік, про якого йшлося вище. В 30-ті роки XX ст. під керівництвом Б. Усая юний Луїс досліджував роль надниркових залоз у метаболізмі вуглеводів, а саме гормону *адреналіну*.

У 1936 р. з метою подальшого освоювання біохімії Л. Лелуар поїхав в Англію до біохімічної лабораторії Кембриджського університету, яку очолював всесвітньо відомий біохімік *Ф. Г. Гонкінс* (нобелівський лауреат з фізіології та медицини за 1929 р. [1]). Протягом року Л. Лелуар до-

сліджував в Лондоні ензими, а потім повернувся до Інституту фізіології в Буенос-Айресі. Тут він працював у групі вчених, які досліджували роль нирок у регуляції кров'яного тиску. Разом вони отримали пептид *ангіотензин* – речовину, яка надходить у кров за захворювання нирок і підвищує кров'яний тиск.

В 1943 р. після військового перевороту в Аргентині, коли до влади прийшов Хуан Перон, за наказом якого Б. Усая був звільнений з роботи, а його наукова група ліквідована, Л. Лелуар переїхав до США. Там він працював асистентом-дослідником у біохімічній лабораторії К. Корі у Вашингтонському університеті в Сент-Луїсі (штат Міссурі), де проводили дослідження *механізму перетворення вуглеводів (глікогену) в організмі тварин*. Зацікавленість цією проблемою залишилась у Л. Лелуара на все подальше життя.

Через два роки Л. Лелуар повернувся до Буенос-Айреса, де спочатку працював під керівництвом Б. Усая в приватному Інституті біології та експериментальної медицини, а в 1947 р. очолив Інститут біохімічних досліджень, який було створено завдяки фінансовій підтримці власника текстильної компанії *Хайме Кампоара*.

Спочатку завданням наукових досліджень цього Інституту було синтезувати *молочний цукор (лактозу)*. На той час було більш-менш достатньо вивчено механізм розщеплення вуглеводів-полісахаридів, але значно менше було відомо про синтез складних вуглеводів у живому організмі.

Шукаючи ензим для синтезу дисахариду *лактози*, Л. Лелуар з колегами виявили, що цей процес потребує наявності двох нестійких коензимів, які він ідентифікував, як *глюкозо-1,6-дифосфат і нуклеозид-уридиндифосфат-глюкоза (UDP-глюкоза)*. Як пізніше висловився Л. Лелуар, *«присутність уридину як коензиму було в своєму сенсі новиною, тому що в інших сполуках зустрічався тільки нуклеозид з аденином. Поява похідних цукрів у поєднанні з нуклеозидом була також новим фактом»*.

У 1959 р. Л. Лелуар зі співробітниками показав, що глікоген синтезується в печінці за участю *UDP-глюкози* з утворенням *α -1,4-глікозидних зв'язків*. Проаналізувавши синтез крохмалю в рослинах, вони довели, що в цьому процесі бере участь *аденозиндифосфатглюкоза*. Пізніше співробітники різних лабораторій відкрили багато інших цукрових нуклеотидів, які беруть участь в процесах взаємоперетворення простих

цукрів, а також є донорами глюкози для синтезу полісахаридів. Зараз відомо, що метаболічно активною формою глюкози, яка використовується у формуванні нерозгалужених гомополісахаридних ланцюгів, є саме *UDP-глюкоза*.

Коли в 1955 р. диктатуру Перона в Аргентині було повалено, нова влада дала Інституту біохімічних досліджень нове приміщення і нові можливості. В 1962 р. Інститут було приєднано до Університету в Буенос-Айресі як його філіал, а Л. Лелуара було призначено його керівником. Від цієї посади він потім відмовився, щоб приділити більше часу науковій роботі в лабораторії.

За свої наукові дослідження Луїс Лелуар у 1970 р. одноосібно отримав Нобелівську премію з хімії з таким формулюванням: *«за відкриття першого цукрового нуклеотиду і дослідження його функцій в перетворенні цукру і в біосинтезі складних вуглеводів»*. Представляючи Л. Лелуара від імені Шведської королівської академії наук, *Карл Мірбак* сказав: *«Л. Лелуар встановив, що реакція перетворення відбувається не в цукрах, а у відповідних цукрових нуклеотидах»*. Потім він додав: *«Інші вчені швидко зрозуміли фундаментальне відкриття Л. Лелуара. На сьогодні відомо і добре охарактеризовано більше сотні цукрових нуклеотидів, участь яких в різних реакціях є вирішальною»*.

Отримання Нобелівської премії зробило Л. Лелуара національним героєм Аргентини; була навіть випущена поштова марка з його портретом.

Подальші роботи Л. Лелуара були присвячені дослідженню ролі ліпідів як проміжних хімічних сполук у синтезі полісахаридів із цукрових нуклеотидів, а також синтезу глікопротеїнів, які є компонентами біологічних мембран.

Студенти і колеги вважали Л. Лелуара людиною ввічливою і співчутливою. Він проводив важливі наукові дослідження навіть за обмежених фінансових можливостей.

Л. Лелуар брав активну участь у роботі Аргентинського товариства біохімічних досліджень і Панамериканської асоціації біохімічних товариств. Мав почесні нагороди і почесні наукові ступені різних країн; був членом Американської національної академії наук, Американської академії наук і мистецтв, Американського філософського товариства, Папської академії наук і Лондонської королівської академії [34-38].

Помер Л. Лелуар 2 грудня 1987 в Буенос-Айресі, від гострого інфаркту міокарда.

За своє 81-річне життя Луїс Лелуар багато зробив для розвитку біохімічної науки. Так, він вперше отримав безклітинний препарат, здатний окислювати жирні кислоти *in vitro*; довів наявність гуморального фактора (ангіотензину), який підвищує кров'яний тиск. Але найважливішими є його роботи, присвячені дослідженню обміну і біосинтезу вуглеводів. Він вперше показав, що всі біохімічні реакції утворення складних вуглеводів – оліго- та полісахаридів – потребують наявності метаболічно й енергетично активних форм моносахаридів, у ролі яких виступають сполучені з цукрами різні нуклеотиди. У 1950–1960 рр., крім UDP-глюкози, він відкрив декілька десятків нуклеотидифосфатцукрів, які належать до пуринових і піримідинових похідних. Крім того, він встановив ензиматичні реакції, які ведуть до утворення таких похідних цукрів. Луїс Лелуар неодноразово відзначав, що основна заслуга в досягненні ним наукових вершин належить його вчителям.

До плеяди вчених, глибоке розуміння яких результатів своїх досліджень, дало можливість відкрити відразу два цикли біохімічних перетворень – орнітиновий і цикл ди- та трикарбонових кислот, був англійський біохімік німецького походження Ганс Кребс. Він отримав Нобелівську премію з фізіології та медицини в 1953 р. «за відкриття циклу лимонної кислоти» (англ. – «*For his discovery of the citric acid cycle*») і поділив її з Фріцем Ліпманом.

Ганс Кребс

Кребс Ганс Адольф (нім. *Krebs Hans Adolf*) народився 25 серпня 1900 р. в Гільдесгаймі (Німеччина) в родині отоларинголога Георга Кребса і Альми Кребс (Давидсон). Початкову освіту отримав у Андреанум-гімназії в Гільдесгаймі, яку закінчив у 1918 р., коли ще йшла Перша світова війна. Тому його було мобілізовано до Імператорської німецької армії. Там він служив у полку зв'язку, але через 2 місяці війна закінчилась і Ганс повернувся додому.

У 1919–1924 рр. Г. Кребс вивчав медицину в Геттінгенському, Фрайбурзькому, Мюнхенському і Берлінському університетах, а в 1925 р. отримав медичний диплом в Гамбурзькому університеті. Потім він протягом року вивчав хімію в Інституті патології Берлінського університету, а до 1930 р. працював асистентом-лаборантом в Отто Варбурга в Інституті біології Кайзера Вільгельма в Берліні.



Ганс Кребс (1900–1981)

На той час О. Варбург розробив експериментальний метод дослідження клітинного дихання – метод визначення величини поглинання кисню і виділення двоокису вуглецю в процесі метаболізму вуглеводів, ліпідів, протеїнів [1]. Замість того, щоб досліджувати дихання тварин, або досліджувати їхні цілі органи, О. Варбург став використовувати зрізи свіжих тканин, вміщуючи їх у герметичну посудину, з'єднану з датчиком тиску (манометром). Коли в процесі біохімічних реакцій тканини поглинали кисень, тиск в посудині знижувався і це було об'єктивним показником їхньої дихальної активності. Прилад отримав назву «апарат Варбурга». Цим методом добре оволодів Г. Кребс і, використовуючи фактично тільки його, зробив свої блискучі відкриття.

Але спочатку Г. Кребс вирішив зайнятися клінічною медициною (1930 р.) і почав працювати асистентом у муніципальному шпиталі в Алтоні в Гамбурзі, а також приват-доцентом (позаштатним викладачем) у медичній клініці Фрайбурзького університету. В той самий час він продовжував біохімічні дослідження в біохімічній лабораторії клініки Таннгаузера (Фрайбург). Використовуючи експериментальну систему типу «апарата Варбурга», він спочатку виявив у тканинах нирок і печінки ензими, які каталізують окисне дезамінування D- та L-амінокислот (1932 р.).

Потім Г. Кребс зацікавився механізмом синтезу сечовини (основним кінцевим продуктом перетворення азотистих речовин), яка виводить-

ся з організму людини, ссавців, амфібій та риб із сечею. Ще в 1904 р. А. Коссель разом зі своїм видатним учнем *Генрі Дрісдейлом Дакіном* (*Henry Drysdale Dakin*) відкрили в тканині печінки ензим *аргіназу*, яка каталізує гідролітичне відщеплення сечовини від *аргініну* з утворенням *орнітину*. *Аргіназа* найактивніша тільки в печінці, в інших тканинах такої активності не виявлено. І ось в 1932 р. Г. Кребс разом з доктором *Куртом Гензелейтом* (*Kurt Henseleit*) показали, що *синтез сечовини* може відбуватися в зрізах печінки. Так, за додавання до зрізів печінки, які інкубували в аеробних умовах, *амонійної солі* вони спостерігали *синтез сечовини*. В дослідях із заміною амонійної солі різними амінокислотами було встановлено, що *тільки додавання аргініну до зрізів печінки веде до посиленого утворення сечовини*. Цей факт Г. Кребс пояснив тим, що *аргінін за дії аргінази утворює сечовину і орнітин*. Потім з'ясувалось, що і *додавання малої кількості орнітину, цитруліну і аргініну, за наявності амонійної солі, також веде до утворення сечовини*. Результати цих досліджень свідчили про те, що *аргінін, орнітин і цитрулін каталізують процес синтезу сечовини*, а не є просто матеріалом для її утворення. Крім того, Г. Кребс виявив, що орнітин, який додається до зрізів печінки, прискорює синтез сечовини, але сам при цьому не зникає. Тому у Г. Кребса виникла думка, що *біосинтез сечовини є циклічним процесом, в якому орнітин займає центральне місце*. Він запропонував таку схему утворення сечовини в клітинах печінки: *аргінін за дії ензиму аргінази утворює сечовину і орнітин; на наступному етапі до орнітину приєднується молекула аміаку і двоокису вуглецю з утворенням цитруліну; потім до цитруліну приєднується ще одна молекула аміаку з утворенням аргініну; на останньому етапі з аргініну за участю аргінази утворюється сечовина і орнітин*. Таким чином, весь цикл утворення сечовини повторюється. Г. Кребс назвав його орнітиновий цикл, який пізніше одержав назву цикл утворення сечовини Кребса – Гензелейта. Важливо зазначити, що утворення сечовини за цим циклом у зрізах печінки відбувається тільки в присутності кисню і речовин, які окислюються, наприклад, *лактату*. Автори працювали майже рік, провели понад 200 дослідів для підтвердження наявності *орнітинового циклу* в печінці і опублікували в 1932 р. результати своїх досліджень в двох журналах.

Утворення сечовини за циклом Кребса – Гензелейта отримало своє підтвердження в багаточисленних дослідженнях і є загальноприйнятим. Слід, однак, зазначити, що цикл у подальшому був суттєво деталізований і дещо видозмінений, але ім'я Г. Кребса разом з К. Гензелейтом залишилось за орнітиновим циклом в усіх підручниках з біохімії. Крім того, розробка концепції циклічних процесів у біохімії принесла Г. Кребсу всесвітню славу.

У 1933 р. до влади в Німеччині прийшов А. Гітлер, і Г. Кребс, єврей за походженням, залишився без роботи і без грошей, бо був звільнений із Фрайбурзького університету. Але йому пощастило. Рокфелеровське дослідницьке товариство дало Г. Кребсу можливість продовжити біохімічні дослідження під керівництвом всесвітньо відомого *Ф. Г. Гопкінса* (нобелівського лауреата з фізіології та медицини, 1929 р.) в Інституті біохімії Кембриджського університету у Великій Британії. Г. Кребс приїхав до Кембриджа, не взявши із собою *«практично нічого, крім почуття полегшення, кількох книжок і 16 посудинок Варбурга»*.

У Кембриджі Г. Кребс почав працювати демонстратором-біохіміком і досить швидко отримав ступінь магістра. У 1935 р. його було призначено викладачем фармакології Шеффілдського університету. В наступному році його запросили на роботу до Єврейського університету в Реховоті (Палестина), але він відмовився і залишився в Англії, де був призначений викладачем з погодинною оплатою на кафедрі біохімії Шеффілдського університету.

Працюючи в університеті, Г. Кребс зацікавився дослідженням *проміжного обміну вуглеводів в аеробних умовах*. На той час було відомо, що одним із проміжних продуктів обміну речовин у клітині, який утворюється за аеробного розпаду вуглеводів, ліпідів, а також низки амінокислот є *оцтова кислота*. Але накопичення її в організмі тварин не спостерігалось, а це свідчило про те, що вона розщеплюється до кінцевих продуктів – CO_2 і H_2O . Між тим, хімічна структура її стабільна, вона не окислюється відщепленням від неї водню, не декарбоксилюється, як це відбувається з α -кетокислотами і амінокислотами. Виникло запитання – *яким хімічним шляхом відбувається розщеплення оцтової кислоти в тканинах живих організмів?*

У ранніх роботах таких дослідників, як Франц Кнооп (*Franz Knoor*) було запропонова-

но теорію β -окислення жирних кислот (1904 р.). На початку 30-х років XX ст. А. Сент-Дьорді досліджував перетворення дикарбонової *фумарової кислоти* і відкрив ензими перетворення дикарбонових кислот – *янтарної (буриштинової)* і *лимонної (цитрату)*, які каталізують проміжні окисні реакції за перетворення пірувата до CO_2 і H_2O [1]. Саме роботи А. Сент-Дьорді стали відправним пунктом для досліджень Г. Кребса.

Використовуючи манометричний метод Варбурга, Г. Кребс дослідив вплив понад 20 органічних кислот, близьких за будовою до вуглеводів, на поглинання кисню тканинами грудних м'язів голуба. Як згадував пізніше молодий помічник і співавтор Г. Кребса Вільям Джонсон (*W. A. Johnson*), досліди проводили від 9-ої години ранку до 8-ої години вечора, а потім ще планували постановку дослідів на наступний день. Внаслідок такої кропіткої і важкої праці протягом року Г. Кребс зробив *друге найважливіше відкриття* – він описав цикл лимонної кислоти, або цикл три- і дикарбонових кислот, який зараз називають *циклом Кребса*. Важливість цього циклу полягає в тому, що це загальний кінцевий шлях окислювального катаболізму вуглеводів, протеїнів і ліпідів у клітинах в аеробних умовах. Зараз відомо, що реакції та ензими циклу трикарбонових кислот локалізовані в матриксі та внутрішній мембрані мітохондрій і функціонально та біохімічно вони спряжені з мітохондріальними електронно-транспортними ланцюгами.

Що ж з'ясував Г. Кребс? За його уявленням залишок оцтової кислоти (двовуглецева молекула) взаємодіє з чотиривуглецевою щавлевооцтовою кислотою (оксалоацетатом), що приводить до утворення шестивуглецевої (C_6) молекули лимонної кислоти (цитрату). Внаслідок подальшого багатоступеневого перетворення три- та дикарбонових кислот (інтермедіатів циклу) відбувається регенерація оксалоацетату (C_4) та виділяються дві молекули двоокису вуглецю (C_2). І цикл повторюється. Просто і геніально!

Результати своєї роботи Г. Кребс поспішив опублікувати і запропонував статтю до найвпливовішого видання «*Nature*», але в найближчих номерах часопису місця не було. Тоді Г. Кребс надіслав статтю до журналу «*Enzymologia*», де вона і вийшла в 1937 р. в 4-му номері під назвою: «*The role of citric acid in intermediate metabolism in animal tissues*». Таким чином, 1937 р. став важливою віхою в історії біохімічної науки.

Крім того, Г. Кребс з'ясував, що молочна (лактат) і піровиноградна (піруват) кислоти самі по собі можуть самостійно перетворюватись. В подальшому він показав, що за окислення пірувату утворюється проміжна сполука – ацетил-КоА (ацетилкоензим А, CoA). Коензим А було відкрито Ф. Ліпманом і колегами в 1945 р. Тому в сучасному уявленні перша реакція циклу три- та дикарбонових кислот починається не з оцтової кислоти, а з конденсації ацетил-КоА з оксалоацетатом та утворенням лимонної кислоти і вивільненням CoA. За повного окислення однієї молекули ацетил-КоА до CO_2 та H_2O в циклі трикарбонових кислот генерується 12 молекул АТФ і утворюється низка метаболітів, які в подальшому використовуються в інших синтетичних процесах.

Слід зазначити, що сучасне уявлення про цикл три- та дикарбонових кислот склалося завдяки багаточисленним експериментальним дослідженням, серед яких особливо важливе місце займають дослідження саме Г. Кребса. Він вважав, що основні принципи цього циклу, як і орнітинового, підходять і до пояснення перетворення інших метаболітів в організмі людини та тварин, таких як, наприклад, перетворення жирних кислот.

Відкриття циклічного принципу проміжних обмінних реакцій, таким чином, стало віхою в розвитку біохімії, тому що дало ключ до розуміння шляхів метаболізму взагалі. Крім того, воно стимулювало інші експериментальні роботи і розширяло уявлення вчених про послідовність хімічних реакцій в живих клітинах.

У 1939 р. Г. Кребс отримав британське громадянство. Під час Другої світової війни він керував дослідженнями в Британській медичній раді з харчування, зокрема й такими, що стосуються потреб у вітамінах А і С для солдат. У 1945 р. його було призначено завідувачем кафедри біохімії та директором Медичної дослідницької ради з клітинного метаболізму Шеффілдського університету.

Нобелівську премію з фізіології та медицини було присуджено Гансу Кребсу в 1953 р. «за відкриття циклу лимонної кислоти». Він розділив її з Фріцем Ліпманом. У поздоровчому слові дослідник з Каролінського інституту Ерік Хаммарстен сказав: «Цикл Кребса пояснює два одночасних процеси: розщеплення, за якого вивільнюється енергія, і синтетичний, за якого ця енергія використовується».

У нобелівській лекції Г. Кребс підсумував свої відкриття в галузі циклу трикарбонових кислот. Завершуючи промову «екскурсом у загальну біологію», він звернув увагу на широке значення цих відкриттів. *«Наявність одного й того самого механізму утворення енергії в усіх живих істотах дозволяє зробити ще два висновки, – сказав він. – По-перше, цей механізм виник на дуже ранніх етапах еволюції, і, по-друге, життя в її теперішньому стані зародилось лише один раз».*

Через рік після отримання Нобелівської премії Г. Кребс був призначений на посаду професора біохімії Наффілдського відділення клінічної медицини Оксфордського університету, куди переїхала Медична дослідницька рада з клітинного метаболізму.

У 1957–1958 рр. Г. Кребс разом зі своїм учнем Гансом Лео Корнбергом (*Hans Leo Kornberg*) виявили гліюксилатний цикл (шунт) – видозмінений цикл трикарбонових кислот, який є в рослин, бактерій, грибів. В цьому циклі дві молекули ацетил-СоА перетворюються в сукцинат, який потім може використовуватись для синтезу вуглеводів. Його можна вважати однією з анаплеротичних реакцій циклу трикарбонових кислот, завдяки якому поповнюється кількість сукцинату і малату. Авторами було з'ясовано ензими і реакції гліюксилатного циклу. Вони також разом працювали над монографією *«Перетворення енергії в живій матерії»* (*«Energy Transformation in living Matter: A Survey»*, 1957), в якій розглядався цикл лимонної кислоти і його функції в живому організмі. Г. Кребс написав також книгу роздумів (*«Reminiscences and Reflections»*, Oxford, 1982) та книгу про Отто Варбурга.

Після виходу на пенсію з Оксфордського університету в 1967 р. Г. Кребса було призначено професором – консультантом з біохімії в Лондонській королівській вільній шпитальній медичній школі, де він продовжував дослідження з регуляції швидкості обмінних процесів, а також «уроджених порушень метаболізму» і із збереження печінки для її пересадження.

Свої дослідження зі з'ясування хімічних процесів, які відбуваються в живих клітинах, Г. Кребс порівнював із розшуком відсутніх файлів у головоломках-мозаїках.

Ганс Кребс пішов із життя 22 листопада 1981 р. в Оксфорді на 82 р. життя.

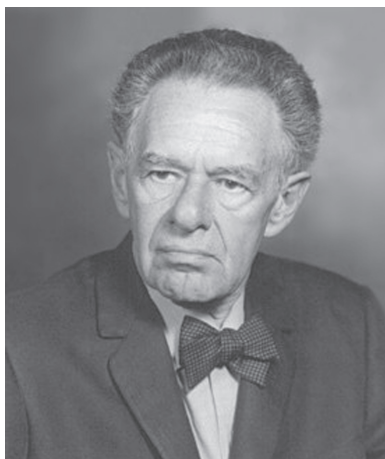
Г. Кребс був удостоєний багатьох нагород, серед них премії Ласкера Американської асоціації охорони здоров'я (1953 р.), Королівської медалі (1954 р.) і медалі Коплі (1961 р.), Королівського наукового товариства, а також золотої медалі Королівського медичного товариства (1965 р.). У 1958 р. королева Англії Єлизавета II надала йому дворянський титул (возвела в рицарське достоїнство). Він був іноземним членом різних академій, співробітником Американської колегії лікарів і членом Вейцманівського Інституту (Ізраїль) [39–45].

Аналізуючи результати наукової роботи Ганса Кребса, слід зазначити, що багато з того, що ми знаємо зараз про обмін речовин в організмі (метаболізм), зроблено цією непересічною людиною. Так, досліджуючи тканинний азотистий обмін, він виявив у нирках і печінці ензимні системи окисного дезамінування амінокислот. У 1932 р. він відкрив послідовність хімічних реакцій, завдяки яким у печінці тварин утворюється кінцевий продукт азотистого обміну – сечовина. Це цикл сечовини, або орнітиновий цикл Кребса. Він також відкрив і дослідив процес синтезу глутаміну з глутамінової кислоти і аміаку; досліджував властивості ензимів і вплив на них хімічних і фізичних факторів. А апогеєм його досліджень було встановлення циклу три- і дикарбонових кислот із восьми реакцій, які в присутності кисню забезпечують перетворення продуктів розщеплення вуглеводів, ліпідів і протеїнів до двоокису вуглецю у високоенергетичну сполуку аденозинтрифосфат (АТФ). Тобто цикл Кребса об'єднує окислення фактично всіх органічних речовин в живих організмах.

Другим нобелівським лауреатом із фізіології та медицини за 1953 р. був американський біохімік німецького походження Фріц Ліпман, який отримав премію *«за відкриття коензиму А і його значення для проміжних стадій метаболізму»* (англ. - *«For his discovery of co-enzyme A and its importance for intermediary metabolism»*).

Фріц Ліпман

Ліпман Фріц Альберт (нім. *Lipmann Fritz Albert*) народився 12 червня 1899 р. в Кенігсберзі (тепер Калінінград), Прусія, в єврейській родині (Леопольда і Гертруди (Лахманської) Ліпман). Його батько був адвокатом. Але під впливом дядька, який був педіатром, у 1917 р. Фріц почав вивчати медицину у Кенігсберзькому уні-



Фріц Ліпман (1899–1986)

верситеті. Оскільки в цей час ще йшла Перша світова війна, Фріц прослужив кілька місяців в армії в медичних військах до закінчення війни. Після повернення з армії він продовжив освіту в Мюнхенському, а пізніше в Берлінському університеті. Тут у 1922 р. він отримав медичний ступінь магістра за дисертацію з колоїдної хімії. Особливе враження на молодого Ф. Ліпмана справив навчальний курс, який він потім назвав «граматико-хімічним курсом» професора Клінгера. Після закінчення університету Ф. Ліпман пройшов тримісячні курси з біохімії, а в 1923 р. отримав грант на проведення досліджень з фармакології в Амстердамському університеті (Нідерланди). Через три місяці він повернувся до Кенігсбергу і вирішив стати біохіміком, для чого вступив до Кенігсберзького університету, де продовжив вивчати хімію під керівництвом видатних вчених того часу – професорів Меєрвейна і Клінгера. У 1927 р. Ф. Ліпман за дисертацію з досліджень біохімічних реакцій в м'язових клітинах отримав докторський ступінь з хімії в Берлінському університеті.

Протягом наступних двох років Ф. Ліпман працював асистентом в *Отто Мейєргофа* в Біологічному інституті Кайзера Вільгельма спочатку в Берліні, а з 1929 р. – у Гейдельберзі. Саме в Гейдельберзі він познайомився з *Отто Ганом* – спеціалістом з ядерної фізики, а також з біохіміками *Отто Варбургом* і *Гансом Кребсом*. Останні досліджували процеси перетворення вуглеводів в тканинах тварин.

Що ж було відомо на той час про ці процеси?

Так, в середині 20-х років XX ст. вченими була розроблена загальна схема клітинного ме-

таболізму вуглеводів. Вже було відомо, що за анаеробного гліколізу піруват перетворюється до лактату (молочної кислоти), яка може накопичуватись в м'язах. Але О. Мейєргоф показав, що за наявності кисню тільки 1/5 лактату повністю окислюється до CO_2 і H_2O . З цього він дійшов висновку, що клітинна енергія, яка утворюється завдяки окисненню лактату киснем використовується клітиною для повторного синтезу глюкози з 4/5 залишків молекул лактату. «За відкриття тісного взаємозв'язку між процесом поглинання кисню і метаболізмом молочної кислоти в м'язах» О. Мейєргоф отримав Нобелівську премію з фізіології та медицини за 1922 р. [1].

Зрозуміло, що працюючи під керівництвом О. Мейєргофа, Ф. Ліпман також зацікавився з'ясуванням механізмів, завдяки яким живі клітини виробляють і утилізують енергію. Досліджуючи ці механізми він виявив, що *натрію фторид* гальмує окислення лактату в м'язах. Крім того, він досліджував *креатинфосфат* (фосфокреатин), розщеплення якого пов'язано з м'язовим скороченням.

У 1931 р. Ф. Ліпман повернувся до Біологічного інституту Кайзера Вільгельма в Берліні як асистент *Альберта Фішера*, який навчив його вирощувати *фібробласти* (клітини ембріональної тканини) в культурі *in vitro* – дуже корисний метод для вивчення клітинного метаболізму.

В тому самому 1931 році Ф. Ліпман зустрів американку *Елфреду М. Холл*, з якою одружився і переїхав до Нью-Йорка, де отримав субсидію Рокфеллеровського фонду. Тут, у Рокфеллеровському інституті медичних досліджень (зараз Рокфеллеровський університет) разом з хіміком *П. А. Левіним* він досліджував *фосфорилювання протейнів*.

Але в 1932 р. Ф. Ліпман знову повернувся до А. Фішера, який працював у новій лабораторії Біологічного інституту Карлсберзького фонду в Копенгагені (Данія). Протягом наступних 7 років Ф. Ліпман цікавився питанням: як клітини виробляють енергію для забезпечення біохімічних реакцій, необхідних для підтримання життя? Він з'ясував, що в присутності кисню анаеробний гліколіз пригнічується. Це відомий ефект Пастера. Але чому це відбувається? Для аналізу цього ефекту Ф. Ліпман досліджував окислення пірувату, проміжного продукту метаболічного процесу. З цією метою він використав ензимну

систему, яку отримав з бактерії *Lactobacillus delbrueckii*. Результати дослідів показали, що перетворення пірувату до ацетату повністю залежить від присутності неорганічного фактора і приводить до утворення фосфорилованої форми ацетату – *ацетилфосфату*. Ф. Ліпман дійшов висновку, що саме *ацетил фосфат* є хімічно активною формою ацетату, яка з'єднуючись з оксалоацетатом, утворює лимонну кислоту (*цитрат*) на першому етапі циклу Кребса. Це твердження було помилковим, проте він зрозумів, що в циклі Кребса повинна перетворюватись активна форма ацетату. Але яка?

На превеликий жаль, продовжити свої дослідження в Копенгагені Ф. Ліпман не зміг. Наприкінці 30-х років XX ст. нацистська Німеччина розповсюдила сферу свого впливу і на Данію. Розуміючи, що як єврей, він не зможе ані повернутися до Німеччини, ані залишитися в Данії, Ф. Ліпман з дружиною у 1939 р. емігрували до Сполучених Штатів. Там він отримав посаду наукового співробітника відділу біохімії (керівник *Вінсент Дю Віньо*) в медичному коледжі Корнелльського університету (Нью-Йорк). У Корнеллі він залишався до 1941 р., а потім переїхав до Бостона, де став науковим співробітником хірургічного відділення Гарвардської медичної школи і Массачусетського шпиталю загального типу. Через два роки Ф. Ліпман став науковим співробітником, а в 1949 р. – професором біохімії в Гарварді. В 1944 р. він отримав американське громадянство.

Працюючи в різних установах США, Ф. Ліпман продовжував розпочате в Копенгагені дослідження клітинного метаболізму. Результати цієї роботи дали йому можливість висловити припущення, що основним джерелом енергії для підтримання метаболічних реакцій в живих клітинах є аденозинтрифосфат (АТР). Хімічні (макроергічні) зв'язки, що утворюються фосфорною групою АТР постачають енергію, яка утилізується клітинами тварин і людини. Але залишалося незрозумілим, як АТР вивільнює енергію. Цей механізм було розшифровано після того, як в 1945 р. Ф. Ліпман з колегами відкрив коензим А (коензим ацилювання, *КоА*, *СоА*). Після виділення, встановлення структури і синтезування *СоА* Ф. Ліпман зрозумів, що саме АТР допомагає перетворити енергію своїх фосфатних зв'язків в інші, необхідні для організму форми хімічної енергії. Так, наприклад, активація оцто-

вої кислоти й інших карбонових кислот відбувається ензиматичним шляхом за участю АТР, що веде до утворення активної форми ацил- $\sim\text{СоА}$ з макроергічним зв'язком між ацильною групою і сіркою сульфгідрильної групи *СоА*. Це відкриття дало можливість зрозуміти, яким чином неактивна форма оцтової кислоти активується і завдяки якій енергії утворюється лимонна кислота в циклі трикарбонових кислот Кребса. Фактично Ф. Ліпман розшифрував перший етап перетворень в циклі Кребса.

Щоб зрозуміти важливість відкриття Ф. Ліпмана, необхідно знати будову і значення *СоА*. До складу *СоА* входить *пантотенова кислота* (вітамін B_3), *ADP* і β -меркаптоетаноламін, який має дуже важливу SH-групу, тому коензим А правильно треба писати *СоА-SH*. До цієї сульфгідрильної групи за участю АТР і приєднуються ацетильні та інші ацильні залишки з утворенням макроергічного зв'язку, наприклад, $\text{CH}_3\text{-CO}\sim\text{SCoA}$. Отже, коензим А бере участь у багатьох реакціях, до яких залучені не тільки ацетильні, а й будь-які ацильні групи. Перетворення вуглеводів, жирів (особливо жирних кислот) і значною мірою амінокислот пов'язано з *СоА*. Він необхідний для дії багатьох ензимів, одні з яких здійснюють перенесення ацильних груп до *СоА* від тіолових груп або від β -оксокислот, а інші – переносять ацильні групи від *СоА* до речовин, які не мають сірки.

Таким чином, функціонально активною групою *СоА* є кінцева сульфгідрильна група *SH*, яка зазнає по чергово ацилювання з утворенням ацил-*СоА* та деацилювання з вивільненням *СоА-SH*. Ацил-*СоА* має великий запас енергії; як і АТР, він належить до сполук із макроергічним зв'язком, завдяки якому відбувається багато реакцій синтезу і розщеплення біомолекул у живій клітині.

І тому зрозуміло, чому Ф. Ліпман був відзначений Нобелівською премією з фізіології та медицини за 1953 р. «за відкриття коензиму А і його значення для проміжних стадій метаболізму» (разом з Г. Кребсом, який був нагороджений «за відкриття циклу лимонної кислоти»). У вітальному слові в зв'язку з їх нагородженням Ерік Хаммарстен із Каролінського інституту сказав: «Це – визнання глибоких і значних досягнень у галузі досліджень функцій живої клітини». Звертаючись до Ф. Ліпмана, він продовжив: «Ви подолали основні перешкоди, чітко продемон-

струвавши механізм широко розповсюджені реакції, і однозначно відкрили новий спосіб передачі енергії в клітині».

У 1957 р. Ф. Ліпман став професором біохімії Рокфеллеровського університету, де займався дослідженням карбамоїлфосфату, структури ракових клітин, гормона щитоподібної залози і його ролі в регуляції обміну енергії в організмі, процесів у проміжних фазах метаболізму. Він залишався активним дослідником до останніх днів свого життя, хоча ще в 1970 р. отримав звання почесного професора Рокфеллеровського університету.

Фріц Ліпман пішов з життя 24 липня 1986 р. у Поускінсі (штат Нью-Йорк).

Ф. Ліпман був нагороджений медаллю Карла Нойберга Американського товариства хіміків (1948), національною медаллю «За наукові досягнення» Національного наукового фонду (1966), а також мав нагороду Міда Джонсона Американської академії педіатрії (1948). Він був почесним членом багатьох наукових товариств і почесним доктором університетів Парижа, Марселя, Чикаго і Коненгагена [46-50].

Аналізуючи наукові дослідження Ф. Ліпмана, слід зазначити, що найважливішим його досягненням є відкриття фактора ацетилювання (ацилювання), а саме – *CoA*. Він розшифрував його структуру, показав його участь в циклі Кребса та встановив наявність і участь *CoA* в процесах ацетилювання в усіх тканинах тварин, рослин і мікроорганізмів. Ще дуже важливим є те, що саме Ф. Ліпман ввів поняття про «багаті енергією фосфорні сполуки» і створив теорію накопичення і використання енергії в біохімічних процесах. У 1948 р. Ф. Ліпман показав, що динітрофенол за дії на мітохондрії стимулює їх дихання, але інгібує спряжене з ним окисне фосфорилювання, тобто синтез АТФ з АДФ і фосфату.

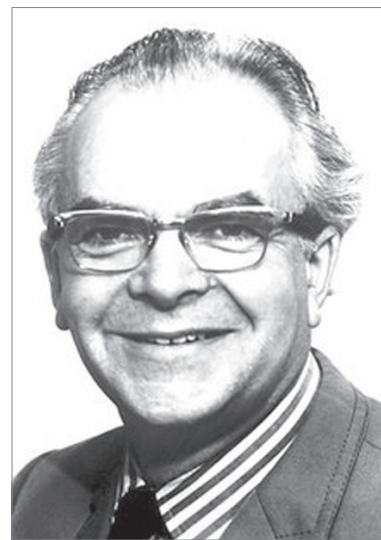
Досягненням обох нобеліантів – Ганса Кребса і Фріца Ліпмана є те, що вони розшифрували основні метаболічні шляхи в організмі людини і тварин. Г.Кребсу належить уявлення про циклічність перетворення хімічних речовин в живих організмах і він відкрив два основних цикли – орнітиновий і лимонної кислоти. Завдяки роботам цих двох корифеєв біохімії ми зараз знаємо, що цикл ди- та трикарбонових кислот (цикл лимонної кислоти, цикл Кребса) – це циклічна послідовність ензиматичних реакцій, внаслідок яких ацетил-*SCoA* – продукт основних

видів метаболічного палива (вуглеводів, жирів, амінокислот), окислюється до двоокису вуглецю з утворенням атомів водню, які використовуються для відновлення первинних акцепторів дихального ланцюга мітохондрій – нікотинамідних або флавінових коензимів.

Отже, до початку 60-х років ХХ ст. було встановлено всі основні шляхи перетворення енергії в мітохондріях, бактеріях і рослинах. Однак механізм окисного фосфорилювання залишався нез'ясованим. Для встановлення механізму поєднання окислення та фосфорилювання було запропоновано безліч гіпотез. Але всі вони не задовольняли дослідників. Кроком вперед була «хеміосмотична теорія» переносу біологічної енергії, запропонована Пітером Мітчелом.

У 1978 р. Нобелівську премію з хімії було присуджено англійському біохіміку Пітеру Д. Мітчеллу «за зроблений внесок у розуміння процесу переносу біологічної енергії на основі створеної ним хеміосматичної теорії» (англ. – *for his contribution to the understanding of biological energy transfer through the formulation of the chemiosmotic theory*).

Пітер Мітчелл



Пітер Мітчелл (1920–1992)

Мітчелл Пітер Денніс (англ. *Mitchell Peter Dennis*) народився 29 вересня 1920 р. в Мітчемі (графство Суррей) в родині службовця Кристофера Гіббса і Беатрис Дороті (Теплан) Мітчелл. Він закінчив Королівський коледж у Тонтоні, де навчався у відомого математика і музиканта Ч. Л. Уайтмана. В 1943 р. Пітер закінчив коледж у Кембриджі, де вивчав хімію, фізику, матема-

тику і біохімію та отримав ступінь бакалавра з відзнакою. В тому самому році він почав готувати докторську дисертацію з біохімії під керівництвом Дж. Ф. Даніеллі в лабораторії, яка займалась дослідженням переносу біохімічних речовин крізь клітинні мембрани, і в той же час продовжував вивчати біохімію. Дж. Даніеллі створив концепцію про молекулярну будову біологічних мембран. Після від'їзду Дж. Даніеллі з Кембриджу П. Мітчелл перейшов до групи з вивчення ензимів, яку очолював відомий ензимолог М. Диксон. У 1950 р. П. Мітчеллу було присуджено докторський ступінь за дисертацію про механізм дії пеніциліну, який було відкрито *Александром Флемінгом* у 1922 р. (нобелівський лауреат з фізіології та медицини за 1945 р.), лекції якого П. Мітчелл слухав ще студентом.

Того ж 1950 року П. Мітчелла було призначено демонстратором на біохімічній кафедрі в Кембриджі. Тут він досліджував *механізм окисного фосфорилування* (цим шляхом утворюється 95% енергії в аеробних організмах) і подібний до нього *механізм фотосинтетичного фосфорилування в рослинах*.

Яким чином живі організми генерують енергію? Як вони її перетворюють і як використовують для переміщення в просторі і для біосинтезу органічних сполук? Ці питання цікавили не тільки П. Мітчелла. На той час (1955 р.) біохіміками всього світу вже було визнано *теорію Фріца Ліпмана* (про нього мова йшла вище) відносно того, що *аденозинтрифосфат (АТФ)* є *універсальним джерелом енергії в живих організмах*. Саме АТФ підтримує різні енергетичні процеси завдяки своїм багатим енергією дво-фосфорильним зв'язкам. А шведський біохімік Аксель Хуго Теодор Теорелль (Theorell, 06.07.1903–15.08.1982 рр.) – нобелівський лауреат з фізіології та медицини «за відкриття, що стосуються природи і механізму дії окислювальних ензимів» у 1955 р. в своїй нобелівській лекції зазначав, що кінцевою метою досліджень ензимів є «заповнення зияючої безодні між біохімією і морфологією».

Отже, в середині ХХ ст. вже чітко вимальовувались контури *біоенергетики – науки про шляхи та способи перетворення енергії в біологічних системах*. Залишалось тільки відпрацювати деталі цього процесу на молекулярному рівні.

Але це завдання було надзвичайно складним, тому що ензими окислювального і фото-

синтетичного фосфорилування тісно пов'язані з *ліпопротеїнами мембран мітохондрій і хлоропластів*. Цей факт не давав можливості проводити експерименти й аналізувати їх результати у водних розчинах.

П. Мітчелл не досліджував мітохондрії спеціально. Він вивчав метаболічні процеси, які відбуваються в *цитоплазматичних мембранах бактерій* під час перенесення речовин. Ця тема зацікавила його ще тоді, коли він був студентом у Кембриджі. П. Мітчелл знав, що *поєднання окислення та фосфорилування відбувається лише в препаратах, де збережена мембранна структура*. Це свідчить про те, що мембрана має бути частиною апарату окисного фосфорилування. Дихальні ензими відрізняються від ензимів бродіння тим, що вони не «плавають» в клітинному соку, а прикріплені до мембран. Перед П. Мітчеллом постало питання: для чого дихальним ензимам потрібна мембрана? Відповідь на це питання знайшли в 1958 р. П. Мітчелл і його колега Дженифер Мойл. Вони дійшли висновку, що *ензиматичні реакції є, як правило, векторними*. Далі вони припустили, що напрямок таких реакцій може бути з'ясований тільки тоді, коли ензими включені в мембрану. Фактично ензимний комплекс може бути так сильно зв'язаний з мембраною, що «маршрут» реакції перетне цей бар'єр, одночасно змінюючи дислокацію хімічних груп. Вони назвали цей процес «*векторним метаболізмом*». У 1961 р. П. Мітчелл опублікував у журналі «Nature» невеличку статтю, де висловив свої теоретичні припущення (*гіпотезу*) відносно ролі мембран у біохімічних процесах. Пройдуть роки і ця невеличка стаття стане самою цитованою роботою з біоенергетики.

До П. Мітчелла біохіміки, які досліджували мембранні ензими, вважали мембрани просто штативом, до якого ці ензими приєднуються, а ензиматичні процеси відбуваються на поверхні, а не в «середині» мембрани. П. Мітчелл висунув нову гіпотезу для пояснення проблеми об'єднання енергії в механізмах окисного і фотосинтетичного фосфорилування. Він припустив, що ланцюг реакцій, які відбуваються в процесі дихання, є носіями водню і електронів, які змінюють один одного. Ці протеїнові носії організовані у внутрішній мембрані мітохондрій і вони переносять протони крізь мембрану. *Оскільки мітохондріальна мембрана не дозволяє пасивний тік протонів, то в процесі дихання*

генерується електрохімічна різниця потенціалів – мембранний потенціал ($\Delta\phi$). За його дії протони із зовнішньої поверхні мембрани прагнуть повернутися назад у внутрішньоклітинний простір. Саме цей потік протонів, який можна порівняти з потоком електронів у батареї, і виконує всю роботу.

Згідно з гіпотезою П. Мітчелла окислення та фосфорилювання може відбуватись тільки за збереження мембранних структур мітохондрій. Основне положення цієї гіпотези полягає в тому, що в процесі функціонування електротранспортних ланцюгів на мембранах виникає градієнт електрохімічного потенціалу іонів водню ($\Delta\mu\text{H}^+$), який є рушійною силою процесу фосфорилювання ADP з утворенням АТР. Таким чином, цей механізм енергетичного поєднання включає стадію перетворення хімічної енергії окислення в $\Delta\mu\text{H}^+$ з наступним перетворенням її в хімічну енергію АТР. Величина $\Delta\mu\text{H}^+$ складається з двох компонентів – електричного (різниця електричних потенціалів $\Delta\phi$) і осмотичного (концентраційного - $\Delta\pi$). Ось чому П. Мітчелл назвав свою схему «хеміосмотичною гіпотезою». Згідно з його гіпотезою взагалі не потрібні ніякі спеціальні продукти, загальні для реакцій дихання і фосфорилювання. Об'єднуючим ланцюгом двох процесів є водневі іони. Схематично це виглядає таким чином:

хімічна енергія окислення $\leftrightarrow \Delta\mu\text{H}^+ \leftrightarrow$
 \leftrightarrow хімічна енергія високоенергетичних
 сполук (в першу чергу АТР).

Зрозуміло, що за гіпотезою П. Мітчелла необхідна наявність двох просторів, які розділені мембраною, крізь яку не проходять іони H^+ і OH^- . У разі порушення властивостей мембрани, наприклад, за підвищення її проникності для H^+ , тобто протонної провідності, має знижуватись синтез АТР. Підвищення проникності для H^+ під час дихання підвищує його силу тому, що перенесення водню і електронів не веде до накопичення енергії, а перетворює всю енергію дихання в тепло. Так П. Мітчелл пояснив дію речовин, що роз'єднують дихання і фосфорилювання.

Хеміосмотичну гіпотезу П. Мітчелла не було прийнято багатьма біохіміками і біоенергетиками того часу, оскільки в ній був відсутній зв'язок між ланцюгом хімічних реакцій, які відбуваються в процесі дихання і ензимом АТРазою. Крім того, вона була теоретичною і потребувала практичних підтверджень.

П. Мітчелл дійсно не ставив дослідів для перевірки своєї концепції. Він захворів, залишив роботу в університеті і в 1968 р. виїхав з Единбурга. На кошти, отримані від спадку, купив ферму на півдні Англії в декількох милях від маленького містечка Бодмін та зайнявся господарством: відновив будинок британського адмірала, де до того проживала родина Глінна, і це стало його родинним Глінн-Хаусом. Він видужав, зацікавився науковими новинками і з'ясував, що науковці світу не помітили чи забули його хеміосмотичну гіпотезу.

Для підтвердження існування хеміосмотичного механізму П. Мітчелл створює в Глінн-Хаусі наукову лабораторію з виразною назвою «Глінновські лабораторії для стимулювання фундаментальних біологічних досліджень», в якій, крім нього, працювала ще його давня колега Дженіфер Мойл.

Завданням створеної П. Мітчеллом лабораторії було підтвердити практично запропоновану ним концепцію. Для доказу її було розроблено нові методи дослідження і з їх допомогою П. Мітчелл і Дж. Мойл практично перевірили теоретичні висновки гіпотези. Експерименти дозволили П. Мітчеллу з'ясувати *тонку структуру мітохондріальної мембрани і підтвердити існування в ній ланцюга ензимів, які переносять електрони і протони. Було також безпосередньо виміряно мембранну різницю потенціалів.*

Результати експериментальних досліджень, що підтверджують існування хеміосмотичного механізму на мембранах П. Мітчелл описав у невеликій книзі, яку він набрав сам на ротапринті. Так з'явилась брошура в сірій обкладинці з написом «Хеміосмотичне спряження в окисному і фотосинтетичному фосфорилюванні» (1966, Glynn Reseach LTD, Bodmin, Cornwall, England). Цю невеличку книгу П. Мітчелл розіслав відомим біоенергетикам і біохімікам всього світу.

І вже в 1970 р. на підтримку створеної П. Мітчеллом концепції виступило декілька відомих вчених Великої Британії, США й СРСР. Чаша вагів схилилась на користь гіпотези П. Мітчелла.

А в 1978 р. Пітеру Д. Мітчеллу було присуджено Нобелівську премію з хімії «за зроблений внесок у розуміння процесу переносу біологічної енергії на основі створеної ним хеміосмотичної теорії» [51]. У вступному слові від Шведської королівської академії наук шведський біохімік

Ларс Ернстер (Lars Ernster) звернув увагу на дискусію, яка була спричинена запропонованою теорією П. Мітчелла, підкресливши вагомість представлених у відповідь експериментальних даних. У кінці промови він вказав на практичне значення роботи нобеліанта: *«Хлоропласти, мітохондрії і бактерії можна розглядати як сонячні та паливні елементи, що утворюються природним шляхом, і можуть слугувати як модель, а в майбутньому, мабуть, і «будівельним матеріалом» для енергетичної технології»*.

Відомий російський біоенергетик В. П. Скулачов у своїй книзі *«Розповіді про біоенергетику»* (1985 р.) висловив думку про те, що П. Мітчелл отримав Нобелівську премію *«всупереч традиції цих премій, не за відкриття якогось нового явища, а за передбачення про його існування»* [52]. Але ж він це довів своїми експериментами!

Працював П. Мітчелл багато, але знаходив час і для участі в громадському житті: він боровся за збереження природних ресурсів, відновлював будинки середньовіччя в Англії. З роками його все більше цікавили питання взаємовідносин між людьми (а не взаємовідношення молекул) в цивілізованому світі, особливо питання придушення індивідуальності в людському середовищі. На власному досвіді він дійшов висновку, що невеликі наукові установи більш живучі і ефективніші. Він багато думав над тим, яким чином можна покращити взаємовідносини і кооперацію між вільними особистостями.

Крім Нобелівської премії, П. Мітчелл був удостоєний численних нагород, зокрема медалі Коплі Лондонського королівського товариства. Він був членом багатьох наукових товариств і мав почесні звання університетів Берліна, Чикаго, Ліверпуля, Единбурга та інших.

Отже, основний напрям наукових робіт Пітера Мітчелла був пов'язаний з дослідженням біохімічних реакцій в певних внутрішньоклітинних органелах. Його можна вважати *фундатором нового напрямку в біохімії – векторного метаболізму і автором нової хеміосмотичної теорії біоенергетики, яка пояснювала природу спряження окислення і фосфорилування в клітині. Він був першим, хто показав, що процеси дихання і фосфорилування локалізовані в біологічній мембрані та пов'язані між собою через електрохімічний потенціал іонів водню*. Наразі

хеміосмотичну теорію П. Мітчелла наведено в усіх підручниках з біохімії.

Пішов з життя П. Мітчелл 10 квітня 1992 р. в Бодміні [53, 54].

У розвитку будь-якої науки, в тому числі й біохімії, є періоди відносно спокійного накопичення фактів, перевірки гіпотез, обговорення проблем. Але час від часу ці періоди перериваються осяянням одного або одночасно декількох вчених, внаслідок чого з'являються нові ідеї і теорії. Саме таким періодом в розвитку біохімічної науки є перша половина ХХ ст., коли було встановлено основні метаболічні шляхи перетворення хімічних речовин в живих клітинах.

Це, в першу чергу, стосується роботи Ганса Кребса, який в 1932 р. відкрив цикл утворення сечової кислоти, так званий *орнітиновий цикл*, а в 1937 р. відкрив *цикл ди- та трикарбонових кислот*, відомий зараз всім біохімікам як *цикл Кребса* – цикл, який поєднав окислення всіх органічних сполук в живому організмі – вуглеводів, ліпідів і протеїнів.

Доповненням до робіт Г. Кребса були роботи Фріца Ліпмана, який в 1945 р. відкрив *коензим А* і встановив його роль в активації органічних сполук. Тоді і стало зрозумілим, як неактивна *оцтова кислота* та інші органічні кислоти активуються в живому організмі, щоб окислитись в *циклі трикарбонових кислот* (циклі Кребса).

Величезну роботу зробили подружжя Корі – Герті і Карл, а також їхні учні та послідовники (зокрема, Луїс Лелуар) для з'ясування *механізму перетворення* (синтезу і розщеплення) *глікогену в печінці і м'язах* (1936–1944 рр.).

Найзначнішим досягненням в дослідженні обміну вуглеводів було встановлення Ерлом Сазерлендом у 1958 р. *регуляції активності ензимів*, які беруть участь у перетворенні хімічних сполук (на прикладі *фосфорилази*) *за участю ензиму аденілатциклази і циклічної АМР*.

Завершенням досліджень метаболізму вуглеводів стали неперевершені роботи Пітера Мітчелла, наукові інтереси якого пов'язані з вивченням спрямованості біохімічних реакцій у просторі відносно певних внутрішньоклітинних орієнтирів і створенням *хеміосмотичної теорії окислювального фосфорилування, яка лежить в основі біоенергетики*.

І, насамкінець, слід наголосити, що всі ці відкриття сталися не на пустому місці, не з нуля. Роботам вищезгаданих корифеїв передувала на-

пружена праця багатьох попередніх науковців, в тому числі й нобелівських лауреатів, таких як Едуард Бухнер, Артур Гарден, Ганс фон Ейлер-Гельпін, Альберт Сент-Дьорді та інших, про яких йшлося в нашій попередній статті [1].

THE NOBEL LAUREATES' CONTRIBUTIONS TO THE STUDY OF CARBOHYDRATE METABOLISM AND ITS REGULATION. A. HARDEN, H. EULER-CHELPIN, C. F. CORI, G. T. CORI, E. SUTHERLAND, L. F. LOEIO, H. KREBS, F. LIPMANN, P. MITCHELL

R. P. Vynogradova, V. M. Danilova,
S. V. Komisarenko

Palladin Institute of Biochemistry, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: valdan@biochem.kiev.ua

Carbohydrate metabolism is a complex and multi-stage process. Many scientists (biochemists, physiologists, chemists) worked on deciphering this process, but only some of them were awarded the Nobel Prize. Thus, in the early XXth century, the work of A. Garden and H. Euler-Chelpin with yeast cells revealed that the conversion of carbohydrates (sugars) into end products occurs in living cells in several steps with the involvement of enzymes and that this conversion requires the presence of phosphoric acid residue. These studies were the beginning of exploring the chemical reactions (the reactions of intermediate metabolism) that are fundamentals for the vital functions of cells. In 1932, Hans Krebs discovered the ornithine cycle, a sequence of chemical reactions, in which the end product of nitrogen metabolism, urea, is formed in the liver of animals. The apogee of his research was the discovery of tri- and dicarboxylic acid cycle, which combines the oxidation of almost all organic compounds in living organisms. Fritz Lipmann, who in 1945 discovered coenzyme A and identified its role in the activation of organic compounds, furthered the works of H. Krebs. At the time, it became clear how inactive acetic acid and other organic acids are activated in living organisms to be oxidized in the tricarboxylic acid cycle. The great work was done by the spouses Gerty and Carl Cori, and Bernardo Houssay, as well as their students and followers, in particular, Luis Leloir to clarify the mechanism of

conversion (synthesis and breakdown) of glycogen in the liver and muscles. The peak of studying the carbohydrate metabolism was the research of Earl Sutherland who in 1958 revealed the regulation of the activity of enzymes involved in the conversion of chemical compounds (the example – phosphorylase), with the participation of the adenylate cyclase enzyme and c-AMP. The discovery of c-AMP established one of the fundamental principles of almost all vital processes. And the culmination of research on carbohydrate metabolism was the unrivaled works of Peter Mitchell, who studied the course of biochemical reactions in cells relative to certain intracellular “landmarks” and who formulated the chemiosmotic theory of oxidative phosphorylation that underlies bioenergetics.

Key words: carbohydrate metabolism, yeast cells, Krebs cycle, glycogen synthesis and breakdown, phosphorylase, oxidative phosphorylation theory.

References

1. Danilova VM, Vynogradova RP, Komisarenko SV. The contribution of the Nobel Prize laureates to the development of dynamic biochemistry and bioenergetics. E. Buchner, A. Kossel, R. Willstätter, O. Meyerhof, A. Hill, O. Warburg, A. Szent-Györgyi. *Ukr Biochem J.* 2019; 91(1): 108-126.
2. Harden Artur. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A-L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 310-312.
3. Artur Harden. Regime of access : <https://biography.com.ua/nauka/artur-garden.html>.
4. Artur Harden. Regime of access : <https://uk.wikipedia.org/wiki>.
5. Harden Artur. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 161-162.
6. Harden Artur. Prominent chemists of the world: Biographical reference book. Volkov VA, Vonsky EV, Kuznetsova GI. Ed. Kuznetsova VI. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 112.
7. Danylova TV, Komisarenko SV. Scientific investigations of the Nobel prize winner Emil Fischer as a launching pad for the development of biochemistry: a brief overview. *Ukr Biochem J.* 2018; 90(4): 135-142.
8. Danilova VM, Vynogradova RP, Komisarenko SV. The contribution of the Nobel prize laureates to the development of knowledge

- of vitamin biochemistry: Ch. Eijkman, F. G. Hopkins, A. Szent-Györgyi, W. Haworth, P. Karrer, R. Kuhn, H. Dam, E. A. Doisy, G. Minot, W. Murphy, G. Whipple, D. Hodgkin, R. Woodward. *Ukr Biochem J.* 2018; 91(4): 95-117.
9. Hans von Euler-Chelpin. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M-Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 799-801.
10. Hans Karl August Simon von Euler-Chelpin. Regime of access : <http://www.krugosvet.ru/node/41406>.
11. Nozdrachev AD, Polyakov EL, Zelenin KN. - vivos voco! Nobel Prizes in Chemistry for 100 Years. St. Petersburg, "Humanism", 2003.
12. Nobel laureates: Hans von Euler-Chelpin. A failed painter or an accomplished chemist. Regime of access : <https://news.rambler.ru/other/38487933-nobelevskie-laureaty-hans-fon-euler-helpin-nesostoyavshiysya-zhivopisets-ili-sostoyavshiysya-himik>.
13. Hans Karl August Simon von Euler-Chelpin. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 721-722.
14. Hans Karl August Simon von Euler-Chelpin. Prominent chemists of the world: Biographical reference book. Volkov VA, Vonsky EV, Kuznetsova GI. Ed. Kuznetsova VI. M.: Vyshcha shkola, 1991. P. 519.
15. Cori Gerty Theresa. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A-L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 574-576.
16. Gerty Cori. Regime of access : <http://cyclowiki.org/wiki>.
17. Gerty Cori is a Nobel Prize winner in physiology or medicine in 1947. Regime of access : <https://feminism.livejournal.com/502541.html>.
18. Cori Gerty Theresa. Biologists: Biographical directory. K.: Naukova Dumka, 1984. P. 322.
19. Cori GT, Colowick SP, Cori CF. The activity of the phosphorylating enzyme in muscle extracts. *J Biol Chem.* 1939; 127: 771-782.
20. Green AA, Cori GT. Crystalline muscle Phosphorylase. I. Preparation, properties and molecular weight. *J Biol Chem.* 1943; 151: 21-29.
21. Cori Carl Ferdinand. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A-L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 576-579.
22. Carl Ferdinand Cori. Regime of access : <https://uk.wikipedia.org/wiki>.
23. Cori Carl Ferdinand. Regime of access : <https://ru.wikipedia.org/wiki>.
24. Cori Carl Ferdinand. Regime of access : <http://n-t.ru/nl/mf/corik.htm>.
25. Carl F. Cori (1896–1984) Medical Journeys. Regime of access : <http://beckerexhibits.wustl.edu/mig/bios/coric.html>.
26. Houssay Bernardo. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M-Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 539-542.
27. Regime of access : <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1947/houssay/biographical>.
28. Sutherland Earl. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M-Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 342-345.
26. Regime of access : [http://krugosvet.ru/enc/medicina/Cazerlend Erl Uulbur. html](http://krugosvet.ru/enc/medicina/Cazerlend_Erl_Uulbur_.html).
30. Robison GA, Butcher RW, Sutherland EW. Cyclic AMP. Academic Press, New York, 1971. 544 p.
31. Sutherland EW. Studies on the Mechanism of Hormone Action. *Science.* 1972; 177(4047); 401-408.
32. Regime of access : <http://Calder.med.miami.edu/Sutherland/biography.htm>.
33. Carl F. Cori, Eael W. Sutherland, 1915-1974, National Academy of Sciences, Washington D.C., 1978. 350 p.
34. Leloir Luis Federico. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A-L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 675-677.
35. Leloir Luis Federico (1906–1987). Argentinean doctor and biochemist. Regime of access : <https://biography.wikipeading.ru/165074>.
36. Luis F. Leloir (1906–1987). Regime of access : <http://beckerexhibits.wustl.edu/mig/bios/leloir.html>.
37. Luis F. Leloir (1906–1987). Regime of access : <https://hsl.lib.unc.edu/specialcollections/bios/leloir>.
38. Regime of access : <http://www.biblioteca.anm.edu.ar/leloir.htm>.
39. Krebs Hans. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A-L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 601-603.
40. Krebs HA, Henseleit K. Untersuchungen uber die Harnstoffbildung im Tierkörper. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie.* 1932; 210(1-2):33-66.
41. Krebs HA, Johnson WA. Metabolism of ketonik acids in animal tissues. *Biochem J.* 1937; 31(4): 645-660.

42. Krebs HA, Johnson WA. The role of citric acid in intermediary metabolism in animal tissues. *Enzymologia*. 1937; 4: 148-156.
43. Krebs Hans Adolf. Regime of access : <http://www.krugosvet.ru/enc/istoriya/krebs-hans-adolf>.
44. Krebs Hans Adolf. Regime of access : <http://n-t.ru/nl/krebs.htm>.
45. Krebs Hans Adolf. Regime of access : <http://cyclowiki.org/wiki/hans-adolf-krebs>.
46. Lippmann Fritz. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: A-L: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 705-708.
47. Lipmann F, Kaplan NO, Novelli GD, Tuttle LC, Guirand BM. Isolation of coenzyme A. *J Biol Chem*. 1950; 186(1): 235-243.
48. Baddiley J, Thain EM, Novelli GD, Lipmann F. Structure of coenzyme A. *Nature*. 1953; 171(4341): 76.
49. Fritz Albert Lippmann. Regime of access : <https://uk.wikipedia.org/wiki>.
50. Regime of access : http://www.krugosvet.ru/medicina/LIPMAN_ALBERT.html.
51. Mitchell Peter Dennis. Nobel Prize Laureates: Encyclopedia: M-Ya: Trans. from English. M.: Progress, 1992. P. 93-96.
52. Skulachev VP. Mitchell and his guess. In Bioenergy stories. M.: Molodaya Gvardiya, 1985. Regime of access : <http://vivovoco.astronet.ru/VV/Papers/Mitchell/History/htm>.
53. Regime of access : http://www.krugosvet.ru/enc/nauka_i_tekhnika/himiya/Mitchell_Peter_Dennis.html.
54. Regime of access : https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1978/mitchell/biographical/Peter_Mitchell.